

**EVILAZIO DA SILVA ANDRADE**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADES  
BIOLÓGICAS, ESTUDO DE MODELAGEM MOLECULAR E  
CORRELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE DE  
BENZENOSSULFONILAZIRIDINAS**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor. Curso de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina. Orientador: Prof. Dr. Ricardo José Nunes.

**Florianópolis**

**2004**

**EVILAZIO DA SILVA ANDRADE**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADES  
BIOLÓGICAS, ESTUDO DE MODELAGEM MOLECULAR E  
CORRELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE DE  
BENZENOSSULFONILAZIRIDINAS**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de  
Doutor, no Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de  
Santa Catarina, pela Comissão formada pelos professores:

Orientador: Prof. Dr. Ricardo José Nunes

Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Aurea Echevarria

Coordenador: Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera

Banca Examinadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Clarissa Oliveira da Silva (Relatora)

Prof. Dr. Hernan Terenzi

Prof. Dr. Valdir Rosa Correia

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vera Frescura

Florianópolis, Julho de 2004

A minha esposa Meg, aos meus filhos Amadeus e Gabriel, aos meus pais José Bonifácio (*in memorian*) e Maria Aparecida (*in memorian*) e a minha sogra Raquel.

## AGRADECIMENTOS

A Meg pelo amor, carinho, dedicação e também pelo auxílio durante os experimentos de potenciometria e os ensaios com *Artemia salina*;

Ao Prof. Dr. Ricardo José Nunes pela amizade, compreensão nas horas difíceis, e pela coordenação do projeto, sem a qual não seria possível a realização deste trabalho;

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Aurea Echevarria pela amizade, pelo apoio, pela hospitalidade e principalmente pela coordenação de parte do projeto realizado na UFRRJ;

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Clarissa pela valiosa orientação e acompanhamento durante o desenvolvimento da parte de química teórica;

Aos colegas Cláudio, Heloisa e Kênia pela amizade e apoio durante a realização do trabalho na UFRRJ, principalmente ao Cláudio pela divisão do quarto no alojamento;

Aos amigos Juliana Campos, Vanderlei Severgnini e Claudia Poletti pela compreensão, ajuda e uma amizade sincera e verdadeira;

Ao Prof. Dr. Carlos Maurício Rebelo de Sant'Anna pelas valiosas aulas e a orientação durante a realização do trabalho de Modelagem Molecular;

Ao Prof. Dr. Valdir Rosa Correia pelo apoio moral e psicológico nos momentos mais difíceis;

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Miliane Moreira Soares de Souza e sua orientanda Flávia Martins Valim pela realização dos ensaios biológicos de atividade antibiótica;

Aos colegas Emerson, Gustavo, Lisa e Maria Elena, e especialmente ao Tio Romeu e a Eliane e a todos aqueles que acreditaram no sucesso deste trabalho;

A Kely N. de Oliveira pela amizade e auxílio durante os trabalhos de síntese dos compostos;

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Thereza Christina Monteiro de Lima Nogueira e alunos de pós-graduação da Coordenadoria Especial de Farmacologia da UFSC pela realização dos ensaios biológicos, de atividade antidepressiva, e pelo auxílio na interpretação dos dados. Principalmente ao Ricardo A. Vieira (*in memoriam*);

As Dr<sup>as</sup>. Andressa Esteves e Márcia Campos pelo auxílio na realização dos ensaios de atividade citotóxica e de toxicidade geral;

Ao CNPq e ao Departamento de Química da UFSC pelo suporte financeiro.

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	4
LISTA DE ESQUEMAS .....	8
LISTA DE FIGURAS .....	9
LISTA DE TABELAS .....	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	13
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
1 INTRODUÇÃO .....	16
1.1 AZIRIDINAS .....	16
1.2 DETERMINAÇÃO DE $pK_a(S)$ .....	21
1.3 RELAÇÕES ESTRUTURA-ATIVIDADE .....	26
1.4 IMIDAS BIOLOGICAMENTE ATIVAS.....	34
1.5 AZIRIDINAS BIOLOGICAMENTE ATIVAS.....	38
1.6 FÁRMACOS ANTIDEPRESSIVOS.....	40
1.7 FÁRMACOS ANTICANCER.....	42
1.8. AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL (SNC) .....	44
1.9 BIOENSAIO COM BACTÉRIAS E FUNGOS .....	47
1.10 BIOENSAIO DE TOXICIDADE GERAL E CITOTOXICIDADE .....	49
2 OBJETIVOS.....	51
3 PARTE EXPERIMENTAL .....	54
3.1 REAGENTES E INSTRUMENTAÇÃO.....	54
3.2 SÍNTESE DAS N-FENILMALEIMIDAS.....	56
3.3 SÍNTESE DO ANÍDRIDO NORBORNENOSSUCCÍNICO.....	62
3.4 SÍNTESE DAS SUCCINIMIDAS .....	63
3.5 SÍNTESE DA P-TOLUENOSSULFONILAZIDA.....	75
3.6 SÍNTESE DAS BENZENOSSULFONILAZIRIDINAS.....	76
3.7 DETERMINAÇÃO DOS $pK_a(S)$ .....	100

3.8 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL .....	103
3.9 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANALGÉSICA .....	107
3.10 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBIÓTICA.....	108
3.11 AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE GERAL.....	109
3.12 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA.....	110
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	112
4.1 SÍNTESE DOS COMPOSTOS.....	112
4.2 DETERMINAÇÃO DOS $pK_a(S)$ .....	157
4.3 ATIVIDADES BIOLÓGICAS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL .....	163
4.4 ATIVIDADE ANALGÉSICA .....	169
4.5 ATIVIDADE ANTIBIÓTICA.....	170
4.6 TOXICIDADE GERAL FRENTE <i>ARTEMIA SALINA</i> .....	172
4.7 ATIVIDADE CITOTÓXICA.....	172
4.8 RELAÇÃO ENTRE ESTRUTURA QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	174
5 CONCLUSÕES .....	196
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	198

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Abertura do anel aziridínico. ....	16
Esquema 2 – Reação de aziridinas com HONO. ....	17
Esquema 3 – Conversão de aziridina em oxazolina. ....	17
Esquema 4 – Síntese de Wenker. ....	18
Esquema 5 – Síntese de aziridinas via adição de Michael. ....	18
Esquema 6 – Síntese de metoxiaziridinas. ....	18
Esquema 7 – Síntese de aziridinas por fotólise ou termólise. ....	19
Esquema 8 – Rota de síntese das N-fenilmaleimidas. ....	56
Esquema 9 – Rota de síntese do anidrido norbornenossuccínico. ....	62
Esquema 10 – Rota de síntese das succinimidas I. ....	63
Esquema 11 – Rota de síntese das succinimidas II. ....	64
Esquema 12 – Rota de síntese da p-toluenossulfonilazida. ....	75
Esquema 13 – Rota de síntese das aziridinas. ....	77



## LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1 – Titulação potenciométrica da aziridina exo-endo (1l) X = 4-F. ....</i>	<i>101</i>
<i>Figura 2 – Titulação potenciométrica da aziridina endo-endo (2l) X = 4-F. ....</i>	<i>101</i>
<i>Figura 3 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H correspondente a 1-(4'-metilfenil)-pirrol-2,5-diona (8d). ....</i>	<i>114</i>
<i>Figura 4 – Espectro de RMN <sup>13</sup>C correspondente a 1-(4'-metilfenil)-pirrol-2,5-diona (8d). ....</i>	<i>115</i>
<i>Figura 5 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H correspondente a 4-(4'-metilfenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6</sup>-endo]dec-8-eno-3,5-diona (35d). ....</i>	<i>121</i>
<i>Figura 6 – Espectro de RMN <sup>13</sup>C correspondente a 4-(4'-metilfenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6</sup>-endo]dec-8-eno-3,5-diona (35d). ....</i>	<i>123</i>
<i>Figura 7 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto exo-endo aziridina (1d) X = 4-CH<sub>3</sub>. ....</i>	<i>131</i>
<i>Figura 8 – Espectro de RMN <sup>13</sup>C do composto exo-endo aziridina (1d) X = 4-CH<sub>3</sub>. ....</i>	<i>132</i>
<i>Figura 9 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto endo-endo aziridina (2l) X = 4-F. ....</i>	<i>136</i>
<i>Figura 10 – Espectro de RMN <sup>13</sup>C do composto endo-endo aziridina (2l) X = 4-F. ....</i>	<i>137</i>
<i>Figura 11 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H em duas dimensões (COSY) do composto exo-endo aziridina (1b) X = 4-Cl. ....</i>	<i>139</i>
<i>Figura 12 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H em duas dimensões (COSY) do composto endo-endo aziridina (2b) X = 4-Cl. ....</i>	<i>140</i>
<i>Figura 13 – Espectro de RMN <sup>13</sup>C do composto exo-endo aziridina (1a) X = H. ....</i>	<i>142</i>
<i>Figura 14 – Espectro de RMN <sup>13</sup>C (DEPT 90°) do composto exo-endo aziridina (1a) X = H. ....</i>	<i>143</i>
<i>Figura 15 – Espectro de RMN <sup>13</sup>C (DEPT 135°) do composto exo-endo aziridina (1a) X = H. ....</i>	<i>144</i>
<i>Figura 16a – Estrutura da aziridina exdo-endo (1c), obtida através de análise cristalográfica (X = 3,4-diCl). ....</i>	<i>145</i>
<i>Figura 16b – Estrutura da aziridina endo-endo (2b), obtida através de análise cristalográfica (X = 4-Cl). ....</i>	<i>147</i>
<i>Figura 16c – Estrutura da aziridina endo-endo (2m), obtida através de análise cristalográfica (X = 2,3-dimetil). ....</i>	<i>147</i>
<i>Figura 17 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (2,16 µMol/kg) (1f) e (2f) no tempo de imobilidade no Teste do Desespero Comportamental (TDC). ....</i>	<i>164</i>
<i>Figura 18 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (2,16 µMol/kg) dos compostos 1f e 2f (A) e 1e e 2e (B) no tempo despendido nos braços abertos do LCE. ....</i>	<i>165</i>
<i>Figura 19 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (2,16 µMol/kg) (1f), (2f), (A) (1e) e (2e) (B) no número de entradas nos braços fechados do LCE. ....</i>	<i>165</i>
<i>Figura 20 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (2,16 µMol/kg) (1f), (2f), (A) (1e) e (2e) (B) no comportamento de auto-limpeza no LCE. ....</i>	<i>166</i>
<i>Figura 21 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (1f) e (2f) (2,16 µMol/kg) no número de quedas (A) e o tempo despendido na barra giratória (B) do rota-rod. ....</i>	<i>166</i>
<i>Figura 22 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (1a) A e (2a) B em camundongos no tempo de imobilização no TDC. ....</i>	<i>167</i>

<b>Figura 23 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (2,45 <math>\mu\text{mol/kg}</math>) do grupo 2 (a - e) no tempo de imobilidade no TDC. ....</b>	<b>168</b>
<b>Figura 24 – Efeito da administração i.p. da imipramina no tempo de imobilidade no TDC. ....</b>	<b>169</b>
<b>Figura 25 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (2,16 <math>\mu\text{Mol/kg}</math>) dos grupos 4 (A e B) e 5 (A e B) na resposta nociceptiva induzida pela injeção intra-plantar de formalina 2,5%. ....</b>	<b>169</b>
<b>Figura 26 – Estruturas dos estereoisômeros da aziridina não-substituída exo-endo (1c) e endo-endo (2b) minimizadas pelo Mopac. ....</b>	<b>179</b>
<b>Figura 27 – Estruturas dos estereoisômeros da aziridina não-substituída exo-endo (1c), endo-endo (2b) minimizadas através de cálculo ab initio. ....</b>	<b>179</b>
<b>Figura 28 – Estruturas dos estereoisômeros exo-endo aziridina (1c X = 3,4-diCl) e endo-endo (2b X = 4-Cl) obtidas por cristalografia de raios-X. ....</b>	<b>179</b>
<b>Figura 29 – Correlação linear da constante <math>\sigma</math> do substituinte em função do <math>\text{pK}_a</math> das aziridinas exo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). ....</b>	<b>181</b>
<b>Figura 30 – Correlação linear da constante <math>\sigma</math> do substituinte em função do <math>\text{pK}_a</math> das aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). ....</b>	<b>182</b>
<b>Figura 31 – Estruturas dos estereoisômeros da aziridina exo-endo (1a) e endo-endo (2a), protonadas no nitrogênio do anel aziridínico, minimizadas pelo Mopac. ....</b>	<b>183</b>
<b>Figura 32 – Estruturas dos estereoisômeros da aziridina exo-endo (1a) e endo-endo (2a), protonadas no nitrogênio do anel aziridínico, minimizadas através de procedimento ab initio. ....</b>	<b>183</b>
<b>Figura 33 – Estruturas dos estereoisômeros da aziridina exo-endo (1a) e endo-endo (2a), protonadas no nitrogênio do anel imídico, minimizadas pelo Mopac. ....</b>	<b>184</b>
<b>Figura 34 – Estruturas dos estereoisômeros da aziridina exo-endo (1a) e endo-endo (2a), protonadas no nitrogênio do anel imídico, minimizadas através de procedimento ab initio. ....</b>	<b>184</b>
<b>Figura 35 – Correlação linear da densidade do nitrogênio aziridínico (N-9) em função do <math>\text{pK}_a</math> das aziridinas exo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). ....</b>	<b>185</b>
<b>Figura 36 – Correlação linear da densidade do nitrogênio aziridínico (N-9) em função do <math>\text{pK}_a</math> das aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). ....</b>	<b>186</b>
<b>Figura 37 – Correlação linear da energia do HOMO em função do <math>\text{pK}_a</math> das aziridinas exo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). ....</b>	<b>187</b>
<b>Figura 38 – Correlação linear da energia do HOMO em função do <math>\text{pK}_a</math> das aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). ....</b>	<b>187</b>
<b>Figura 39 – Correlação linear da constante do substituinte (<math>\sigma</math>) em função do deslocamento</b>	

químico de RMN $^{13}\text{C}$ das carbonilas das aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). .....	188
<b>Figura 40 – Correlação linear da constante do substituinte (<math>F</math>) em função do deslocamento químico de RMN <math>^{13}\text{C}</math> das carbonilas das aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). .....</b>	<b>189</b>
<b>Figura 41 – Correlação linear da constante do substituinte (<math>\sigma</math>) em função do deslocamento químico de RMN <math>^{13}\text{C}</math> das carbonilas das aziridinas exo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). .....</b>	<b>190</b>
<b>Figura 42 – Correlação linear da constante do substituinte (<math>F</math>) em função do deslocamento químico de RMN <math>^{13}\text{C}</math> das carbonilas das aziridinas exo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). .....</b>	<b>190</b>
<b>Figura 43 – Correlação linear da densidade eletrônica das carbonilas em função do deslocamento químico de RMN <math>^{13}\text{C}</math> das aziridinas exo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). .....</b>	<b>191</b>
<b>Figura 44 – Correlação linear da densidade eletrônica das carbonilas em função do deslocamento químico de RMN <math>^{13}\text{C}</math> das aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). .....</b>	<b>191</b>
<b>Figura 45 – Correlação linear da constante do substituinte (<math>\sigma</math>) em função do Tempo de Imobilidade no TDC para as aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). .....</b>	<b>192</b>
<b>Figura 46 – Correlação linear da densidade do nitrogênio do anel imídico (N-4) em função do Tempo de Imobilidade no TDC para as aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). .....</b>	<b>193</b>
<b>Figura 47 – Correlação linear da Energia do HOMO em função do Tempo de Imobilidade no TDC para as aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear). .....</b>	<b>194</b>

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – ORDEM DE POTÊNCIA PARA VÁRIAS DEPENDÊNCIAS PARAMÉTRICAS .....	28
TABELA 2 – NOVA SELEÇÃO DE SUBSTITUINTES .....	29
TABELA 3 – ÁCIDOS N-FENILMALEÂMICOS E N-FENILMALEIMIDAS SINTETIZADAS .....	57
TABELA 4 – SUCCINIMIDAS SINTETIZADAS .....	64
TABELA 5 – ÁCIDOS SUCCÍNICOS SINTETIZADOS .....	65
TABELA 6 – AZIRIDINAS SINTETIZADAS .....	77
TABELA 7 – RENDIMENTOS E PONTOS DE FUSÃO DOS ÁCIDOS N-FENIL- MALEÂMICOS .....	112
TABELA 8 – RENDIMENTO E PONTO DE FUSÃO DAS N-FENILMALEIMIDAS .....	113
TABELA 9 – RENDIMENTOS E PONTOS DE FUSÃO DOS ÁCIDOS N- FENILNORBORNENOSUCCÍNICOS .....	118
TABELA 10 – RENDIMENTOS E PONTOS DE FUSÃO DAS SUCCINIMIDAS .....	119
TABELA 11 – RENDIMENTOS E PONTOS DE FUSÃO DAS AZIRIDINAS .....	125
TABELA 12A – DADOS CRISTALOGRÁFICOS DA AZIRIDINA (1C) .....	146
TABELA 12B – DADOS CRISTALOGRÁFICOS DA AZIRIDINA (2B) .....	148
TABELA 12C – DADOS CRISTALOGRÁFICOS DA AZIRIDINA (2M) .....	149
TABELA 13A – COMPRIMENTOS DE LIGAÇÕES DA AZIRIDINA (1C) .....	150
TABELA 13B – COMPRIMENTOS DE LIGAÇÕES DA AZIRIDINA (2B) .....	151
TABELA 13C – COMPRIMENTOS DE LIGAÇÕES DA AZIRIDINA (2M) .....	152
TABELA 14A – ÂNGULO DE LIGAÇÕES DA AZIRIDINA (1C) (X = 3,4-DICL) .....	153
TABELA 14B – ÂNGULO DE LIGAÇÕES DA AZIRIDINA (2B) (X = 4-CL) .....	154
TABELA 14C – ÂNGULO DE LIGAÇÕES DA AZIRIDINA (2M) (X = 2,3-DIMETIL) .....	155
TABELA 15 – RAZÃO ENTRE OS ESTEREISÔMEROS FORMADOS .....	156
TABELA 16 – VALORES DOS $PK_A(S)$ , OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE PARA AS AZIRIDINAS EM SOLUÇÃO DE DIOXANO : ÁGUA <sup>A</sup> .....	158
TABELA 17 – VALORES DOS $PK_A(S)$ , OBTIDOS ATRAVÉS DE CÁLCULO AB INITIO PARA AS AZIRIDINAS EM FASE GASOSA .....	160
TABELA 18 – CONSTANTES DE EQUILÍBRIO DA REAÇÃO DE HIDRÓLISE DAS AZIRIDINAS PROTONADAS. ....	161
TABELA 19 – ENSAIOS BIOLÓGICOS REALIZADOS COM AS AZIRIDINAS .....	173
TABELA 20 – ATIVIDADE ANTIDEPRESSIVA DE AZIRIDINAS .....	175
TABELA 21 – DENSIDADE ELETRÔNICA DOS NITROGÊNIO AZIRIDÍNICOS (N-9) E IMÍDICOS (N-4) .....	178
TABELA 22 – $\Delta H_F$ DAS AZIRIDINAS EXO-ENDO E ENDO-ENDO PROTONADAS .....	178

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\delta$	DESLOCAMENTO QUÍMICO
2D	DUAS DIMENSÕES
CCD	CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA
CEF	COORDENADORIA ESPECIAL DE FARMACOLOGIA
CHN	ANÁLISE ELEMENTAR DE CARBONO, HIDROGÊNIO E NITROGÊNIO
CL <sub>50</sub>	CONCENTRAÇÃO LETAL CAPAZ DE REDUZIR A POPULAÇÃO EM 50 %
COSY	RMN DE HIDROGÊNIO EM DUAS DIMENSÕES
d	DUBLETO
dd	DUPLO DUBLETO
DEPT	ACOPLAMENTO DISTORCIDO POR TRANSFERÊNCIA DE POLARIZAÇÃO
DP	DESVIO PADRÃO
dt	DUPLO TRIPLETO
EPM	ERRO PADRÃO MÉDIO
Hz	HERTZ
i.p.	INTRAPERITONIAL
J	CONSTANTE DE ACOPLAMENTO
LABSEAT	LABORATÓRIO DE SÍNTESE E ESTRUTURA-ATIVIDADE
Lit.	LITERATURA
m	MULTIPLETO
MHz	MEGAHERTZ
P.A.	PUREZA ANALÍTICA
P.F.	PONTO DE FUSÃO
PVP	POLIVINIL PIRROLIDONA
QSAR	RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE QUANTITATIVA
R	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO
<i>r. f.</i>	MOBILIDADE RELATIVA DO COMPOSTO EM RELAÇÃO AO SOLVENTE
RMN <sup>13</sup> C	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE CARBONO 13
RMN <sup>1</sup> H	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO
SAR	RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE QUALITATIVA
s	SINGLETO
SNC	SISTEMA NERVOSO CENTRAL
t	TRIPLETO
TDC	TESTE DO DESESPERO COMPORTAMENTAL
TMS	TETRAMETILSILANO

## RESUMO

Na busca de análogos estruturais de imidas cíclicas de interesse terapêutico o presente trabalho teve por objetivo a síntese e caracterização dos estereoisômeros *exo-endo* (**1**) e *endo-endo* (**2**) de uma série de benzenossulfonilaziridinas, ainda não descritas na literatura. As novas substâncias foram obtidas a partir da modificação molecular da succinimida, reunindo em uma mesma molécula as funções químicas, imida e aziridina, uma vez que tanto as imidas como as aziridinas são bastante conhecidas e estudadas, separadamente, pelas suas propriedades farmacológicas. As benzenossulfonilaziridinas foram obtidas através de uma reação, do tipo 1,3-dipolar, entre a p-toluenossulfonilazida (**37**) e uma norbornenossuccinimida (**35**) com diferentes substituintes no anel benzênico (H, 4-Cl, 3,4-diCl, 4-CH<sub>3</sub>, 4-OCH<sub>3</sub>, 4-Br, 4-NO<sub>2</sub>, 4-OH, 3-etil, 3-NO<sub>2</sub>, 4-F, 2,3-dimetil, 3-OCH<sub>3</sub> e 4-COOH). O trabalho teve como objetivo principal, a síntese, caracterização e avaliação de propriedades farmacológicas, tais como, ação no sistema nervoso central (SNC), atividade antibiótica, antinociceptiva, antitumoral e de toxicidade geral da série de benzenossulfonilaziridinas. O trabalho envolveu ainda um estudo de Modelagem Molecular que correlacionou resultados de atividade biológica antidepressiva, propriedades físico-químicas experimentais, como pK<sub>a</sub>(s), deslocamentos químicos de RMN e constantes dos substituintes ( $\sigma$  de Hammett e F e R de Swain Lupton) com parâmetros eletrônicos teóricos, obtidos através de cálculos teóricos utilizando o método semi-empírico AM1. Realizou-se também a determinação dos pK<sub>a</sub>(s) teóricos, utilizando cálculo *ab initio*, método HF/6-31G\*\*, com o objetivo de correlacionar com os valores de pK<sub>a</sub>(s) determinados experimentalmente através do método potenciométrico.

## ABSTRACT

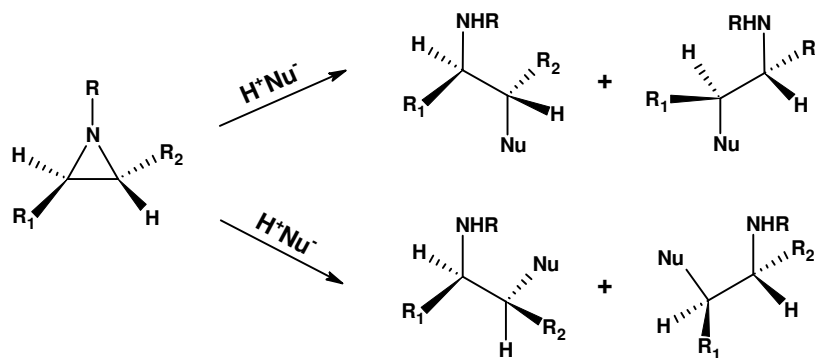
In the search for structural analogues of cyclic imides of therapeutic interest this study aimed to synthesize and characterize the exo-endo (**1**) and endo-endo (**2**) stereoisomers of a benzenesulfonylaziridines series, for which there is no description available in the literature. The new substances were obtained through the molecular modification of succinimide, uniting the chemical functions of imide and aziridine in the same molecule, since the pharmaceutical properties of imides as well as the aziridines are well known and have been extensively studied, separately. The benzenesulfonylaziridines were obtained through a 1,3-dipolar reaction between p-toluenesulfonylazide (**37**) and a norbornenesuccinimide (**35**) with different substituents in the benzene ring (H, 4-Cl, 3,4-diCl, 4-CH<sub>3</sub>, 4-OCH<sub>3</sub>, 4-Br, 4-NO<sub>2</sub>, 4-OH, 3-ethyl, 3-NO<sub>2</sub>, 4-F, 2,3-dimethyl, 3-OCH<sub>3</sub> and 4-COOH). The main aim of this study was the synthesis, characterization and evaluation of the pharmaceutical properties, such as acting on the central nervous system, antibiotic activity, antinociceptive activity, anti-tumor activity and general toxicity of a benzenesulfonylaziridines series. This research also involved a Molecular Modeling study which correlated the results for the antidepressive biological activity, experimental physico-chemical properties, such as pK<sub>a</sub>(s), chemical shifts (NMR) and substituent constants ( $\sigma$  of Hammett and F and R of Swain Lupton) with theoretical electronic parameters, obtained through theoretical calculation utilizing the semi-empirical method AM1. The determination of theoretical pK<sub>a</sub>(s) was also carried out, using *ab-initio* calculation, method HF/6-31G\*\*, in order to correlate the results with pK<sub>a</sub>(s) values determined experimentally through the potentiometric method.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 AZIRIDINAS

Compostos heterocíclicos de três membros, como etilenoimina (aziridina), são muito reativos. Esta é a propriedade química mais importante destes compostos. No anel de três membros, as ligações são tensionadas, apresentando um ângulo de ligação menor em relação ao ângulo das ligações do carbono  $sp^3$ . A reatividade química deve-se ao alívio que ocorre nessa tensão quando uma das ligações é rompida (Streitwieser Jr, 1981).

Aziridinas 2,3-dissubstituída podem sofrer abertura do anel, catalizada por ácido, com inversão ou retenção de configuração, podendo formar quatro isômeros possíveis, como mostrado no Esquema 1 (Atkinson, 1999).

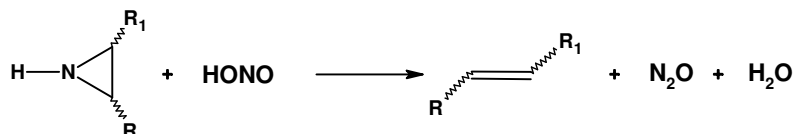


**Esquema 1 – Abertura do anel aziridínico.**

As aziridinas podem reagir com álcoois para formar  $\beta$ -amino éteres. A reação pode ocorrer via mecanismo  $S_N1$  ou  $S_N2$  catalizada por ácido ou base (March, 1992).



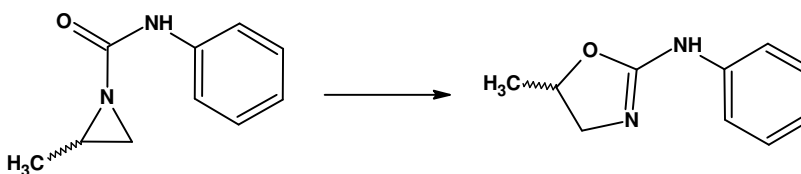
Olefinas podem ser produzidas a partir de aziridinas não substituídas no átomo de nitrogênio, através da reação com ácido nitroso. A reação é estereoespecífica, onde *cis*-aziridinas produzem *cis*-olefinas e *trans*-aziridinas produzem *trans*-olefinas. (Esquema 2) (March, 1992).



**Esquema 2 – Reação de aziridinas com HONO.**

Aziridinas N-alquil substituídas podem ser convertidas em olefinas por tratamento com iodeto ferroso ou com ácido *m*-cloroperbenzóico (March, 1992).

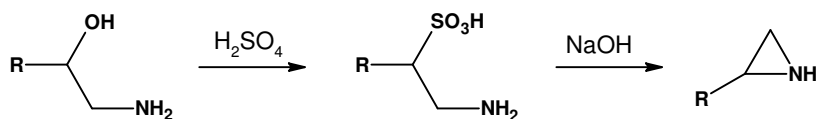
1-Acilaziridinas podem ser convertidas para oxazolinas, via mecanismo  $\text{S}_{\text{N}}\text{i}$ , com retenção de configuração, conforme mostrado no Esquema 3 (Hori et al., 1997).



**Esquema 3 – Conversão de aziridina em oxazolina.**

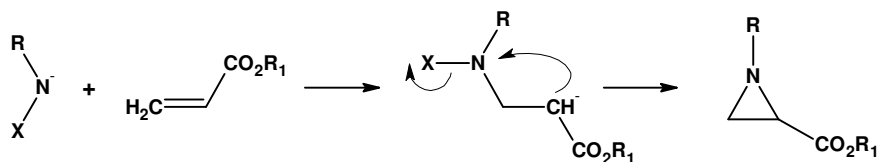
Quanto à preparação, as aziridinas ou azaciclopropanos como também são conhecidas, são preparadas geralmente através de reações de ciclização. A síntese de Wenker é um dos métodos clássicos que consiste na conversão de um  $\beta$ -amino álcool em um  $\beta$ -amino sulfato de hidrogênio, o qual é

ciclizado pela reação com uma base forte conforme mostra o Esquema 4 (Streitwieser Jr, 1981).

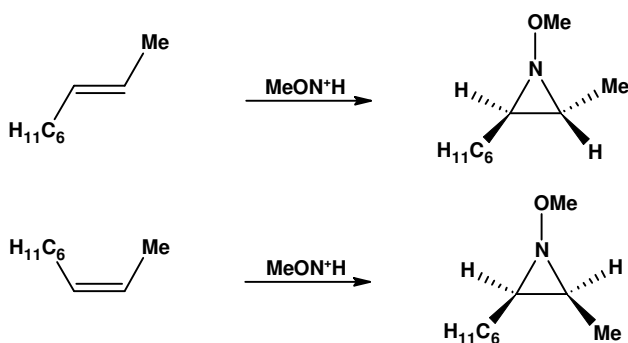


**Esquema 4 – Síntese de Wenker.**

Esteres  $\alpha,\beta$ -insaturados, cetonas e nitro compostos podem ser convertidos em aziridinas através de uma síntese, que envolve um mecanismo de duas etapas (Atkinson, 1999). Na primeira etapa ocorre uma adição de Michael e a reação invariavelmente é não estereoespecífica (Esquema 5).



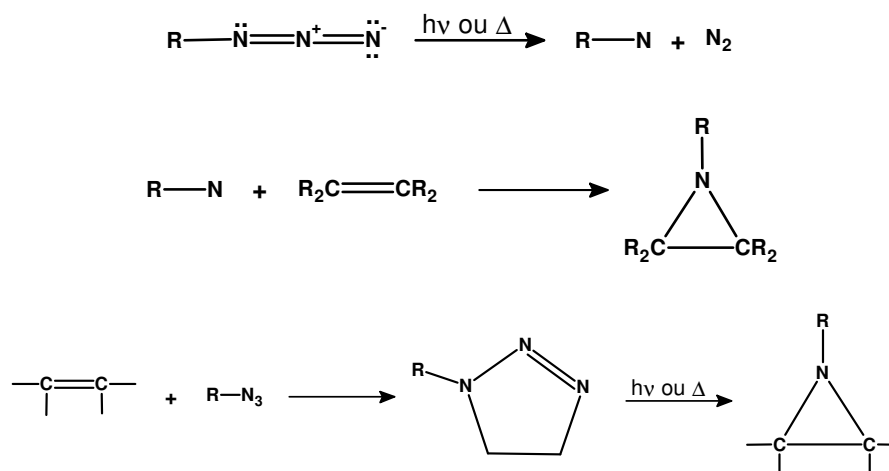
**Esquema 5 – Síntese de aziridinas via adição de Michael.**



**Esquema 6 – Síntese de metoxiaziridinas.**

Metoxiaziridinas podem ser obtidas, através de uma reação estereoespecífica, partindo-se de alkenos com o íon metoxinitrênio (Esquema 6) (Atkinson, 1999).

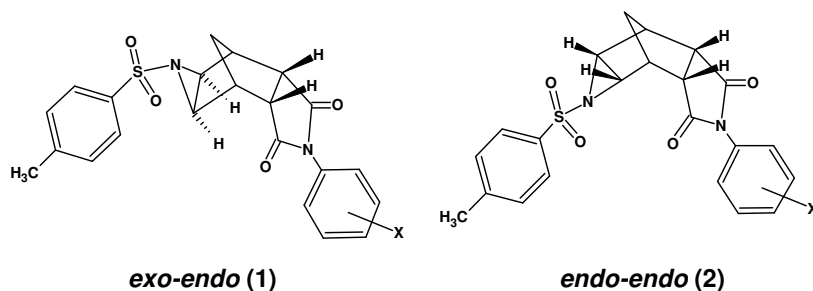
Outro método utilizado para a síntese é a reação, por fotólise ou termólise, de uma olefina com uma azida. A reação pode ocorrer de duas maneiras: numa delas, a azida é convertida para um nitreno, e este é adicionado a dupla ligação de uma maneira análoga à adição de carbenos (Atkinson, 1999). Na outra, ocorre via adição 1,3 dipolar formando uma triazolina, seguida pela perda de nitrogênio como mostra o Esquema 7 (March, 1992).



**Esquema 7 – Síntese de aziridinas por fotólise ou termólise.**

Na preparação dos derivados aziridínicos (1) e (2), objetos de estudo deste trabalho, optou-se pela adição, via 1,3-dipolar, de uma norbornenossuccinimida a uma sulfonilazida.

Os estereoisômeros *exo-endo* (1) e *endo-endo* (2) de uma série de benzenossulfonilaziridinas, ainda não descritas na literatura foram sintetizados, separados e caracterizados.

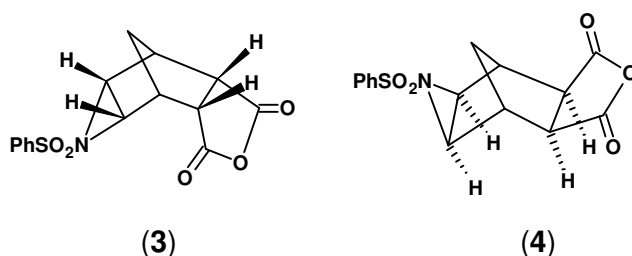


**X = H; 4-Cl; 3,4-diCl; 4-CH<sub>3</sub>; 4-OCH<sub>3</sub>; 4-Br; 4-NO<sub>2</sub>; 4-OH; 3-etil; 3-NO<sub>2</sub>; 4-F; 2,3-dimetil; 3-OCH<sub>3</sub> e 4-COOH.**

O método utilizado na preparação destes compostos foi escolhido com base na literatura (Nunes 1986, Zalkow et al 1963), no qual os autores descrevem a reação de fenilazidas com alcenos tensionados tal como dicitopentadieno, biciclo[2.2.1]-2-hepteno, e anidrido *endo-* e *exo-*biciclo[2.2.1]-2-hepteno-5,6-dicarboxílico fornecendo produtos correspondentes à adição de um mol de azida para um mol do alceno, seguido pela perda de um mol de nitrogênio (Zalkow et al., 1963).

Os autores descrevem também sobre a reação da benzenossulfonilazida com o anidrido 2,3-*endo* e 2,3-*exo-cis*-dicarboxibiciclo[2.2.1]-5-hepteno, fornecendo *endo* aziridina (**3**) e *exo* aziridina (**4**) respectivamente (Zalkow et al., 1963).

Zalkow e colaboradores descrevem em outras publicações a reação de benzenossulfonilazidas, com *cis-endo* ou *cis-exo* anidrido norborneno-5,6-dicarboxílico, onde ocorre a formação de mistura de isômeros *exo* e *endo* sulfonilaziridinas (Hale et al., 1969; Oehlschlager et al., 1969).



As sulfonilaziridinas sintetizadas neste trabalho são estruturalmente semelhantes às descritas na literatura por Zalkow no final dos anos 60. Devido à escassez de dados na literatura, há necessidade de um estudo mais profundo com esta classe de compostos.

Neste trabalho, procurou-se realizar, uma modificação molecular da succinimida com o objetivo de reunir em uma mesma molécula as funções químicas imida e aziridina, uma vez que tanto as imidas como as aziridinas são bastante conhecidas e estudadas, separadamente, pelas suas propriedades farmacológicas (Cechinel Filho et al., 2003; De Oliveira e Alves, 2002).

## 1.2 DETERMINAÇÃO DE $pK_a(s)$

Pesquisadores da área de farmacologia muitas vezes necessitam conhecer a constante de dissociação de um determinado fármaco. É importante conhecer a solubilidade do fármaco no fluído gastrointestinal ou como este fluído afeta a taxa de dissolução do fármaco ou medicamento. Com esses dados é possível prever a estabilidade ou explicar a cinética de degradação de um fármaco dissociável em vários tipos de soluções tampões. Pode-se também formular hipóteses sobre o mecanismo de ação, prever a extensão da dissociação, ou observar a formação de complexos. Enfim, em todos esses casos

e em muitos outros um pesquisador farmacêutico necessita conhecer a constante de dissociação para poder resolver esses problemas.

A importância da determinação do  $pK_a$  de substâncias bioativas, reside no fato de que em muitas situações, as reações químicas ou bioquímicas envolvem uma transferência de próton e a atividade biológica pode estar relacionada com esta propriedade.

Neste trabalho pretendeu-se determinar os  $pK_a(s)$  de uma série de benzenossulfonilaziridinas com o objetivo de correlacionar essas constantes com a demanda eletrônica dos substituintes e também com dados de atividade biológica. Com estes resultados será possível prever com qual substituinte o pró-fármaco será mais potente, ou com que grupos de substituintes a substância apresentará ou não uma determinada atividade biológica.

### **1.2.1 DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL ATRAVÉS DE POTENCIOMETRIA**

A potenciometria é um método eletroquímico baseado na medida da variação da força eletromotriz de uma célula galvânica com a atividade de uma espécie iônica particular. A potenciometria pode ser direta, quando é realizada diretamente a medida de atividade de um íon, ou indireta, quando através de uma titulação potenciométrica se realiza a medida de um potencial que representa o ponto de equivalência de uma reação. (Schneider, 2000; Skoog et al., 1994).

Os métodos volumétricos se caracterizam pela ocorrência de modificações bruscas das concentrações dos íons, que são objeto da determinação, nas imediações do ponto de equivalência. A determinação potenciométrica do ponto final se baseia no uso de eletrodos indicadores capazes

de acusar as variações de concentração dos íons desejados no curso das titulações. Nas titulações potenciométricas, observa-se a variação do potencial do eletrodo indicador com relação a um eletrodo de referência no decorrer da titulação. O ponto de equivalência é revelado por uma variação brusca do potencial do eletrodo indicador (Oehlweiler, 1968; Skoog et al., 1994).

As determinações volumétricas (Volumetria de neutralização) baseadas em reações de neutralização se caracterizam pela variação brusca do pH nas imediações do ponto de equivalência. As variações de concentração do íon hidrogênio podem ser acompanhadas pela medida do potencial de um eletrodo indicador do pH. As curvas de potencial-volume apresentam um ponto de inflexão no ponto de equivalência e são muito semelhantes às curvas de pH-volume (Oehlweiler, 1968; Skoog et al., 1994).

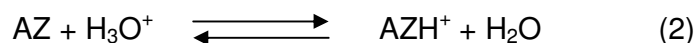
Os gráficos de pH *versus* volume de titulante adicionado são os mais comuns e eles podem ser obtidos mecanicamente, utilizando uma bureta automática acoplada a um potenciômetro. Esses gráficos são freqüentemente utilizados para determinar a constante de dissociação e este método chama-se método de meia-neutralização. Este método é baseado numa variação da equação de Henderson-Hasselbalch (Equação 1) (Cawley, 1993; Cawley, 1995).

$$\text{pK}_a = \text{pH} + \log [\text{HA}] / [\text{A}^-] \quad (1)$$

Neste trabalho foi realizado a determinação de  $\text{pK}_a(\text{s})$  de uma série de benzenossulfonilaziridinas através do método potenciométrico. As benzenossulfonilaziridinas possuem o nitrogênio do anel aziridínico relativamente básico e foram tituladas com uma solução diluída de HCl. Neste caso trata-se de uma titulação de base fraca com ácido forte, e faz-se necessário conhecer muito

bem como o pH do sistema varia com o volume do titulante nas imediações do ponto de equivalência, para que valores mais precisos de  $pK_a$  possam ser obtidos.

No ponto de equivalência todo o reagente titulado, a aziridina, é consumido e o único soluto presente é a aziridina protonada (um sal não neutro), a qual sofre hidrólise ácida (pH abaixo de 7,0). Deste modo o pH é calculado em função da reação da hidrólise ácida desse sal (Equação 3).



No equilíbrio temos:

$$K_a = [AZ] [H_3O^+] / [AZH^+] \quad (4)$$

$$[AZ] = [H_3O^+] \quad (5)$$

Onde:

$K_a$  = Constante de equilíbrio da hidrólise ácida

$[AZ]$  = Concentração da aziridina

$[H_3O^+]$  = Concentração do ácido

$[AZH^+]$  = Concentração da aziridina protonada

Substituindo (5) em (4):

$$K_a = [H_3O^+]^2 / [AZH^+] \quad (6)$$

Resolvendo a equação (6) para  $pK_a$  obtemos:

$$pK_a = 2pH + \log [AZH^+] \quad (7)$$



Através da equação (7) calcula-se o  $pK_a$  da aziridina protonada, ou seja, o  $pK_a$  do ácido conjugado, uma vez que as aziridinas possuem propriedades básicas.

### 1.2.2 DETERMINAÇÃO TEÓRICA ATRAVÉS DE CÁLCULO *AB INITIO*

O cálculo da acidez de moléculas orgânicas tem sido objeto de muitos estudos teóricos e experimentais nos últimos anos. A acidez de álcoois e ácidos carboxílicos em fase gasosa foi estudada, em diversos níveis diferentes de cálculos, desde métodos semi-empíricos a sofisticados métodos de cálculo *ab initio*. A partir desses cálculos, os valores de acidez em fase gasosa, dentro de um erro experimental, podem ser obtidos, desde que sejam levados em conta efeitos de correlação de maneira correta. Ainda que muitas das vezes os valores de  $pK_a$  calculados não reproduzam os valores experimentais absolutos, os desvios observados geralmente são sistemáticos, e isto permite que boas correlações possam vir estabelecidas (Da Silva et al., 1999).

No presente trabalho pretendeu-se realizar a determinação de  $pK_a(s)$  teóricos, através de procedimentos *ab initio*, para uma série de benzenossulfonilaziridinas, as quais possuem propriedades básicas, em função do átomo de nitrogênio do anel aziridínico, este, potencialmente susceptível a uma reação de protonação. O objetivo, da obtenção desses valores, é correlacionar com os valores dos  $pK_a(s)$  obtidos experimentalmente. A partir de boas curvas de correlação entre  $pK_a$  *versus* atividade biológica é possível prever compostos com atividade ou mais potentes em uma série.

### 1.3 RELAÇÕES ESTRUTURA-ATIVIDADE

Modelos matemáticos que relacionem a estrutura química e a atividade biológica, de uma série de compostos análogos, têm sido o objetivo de muitas pesquisas que envolvem planejamento racional de novos fármacos. Em geral, esses compostos diferem entre si pela presença de um ou mais grupos substituintes em posições definidas da estrutura química comum da série. Esses modelos proporcionam o planejamento racional de novos fármacos mais ativos, mais potentes, menos tóxicos e biologicamente mais específicos (Barreiro e Fraga, 2001).

Estes modelos se baseiam em determinados parâmetros como solubilidade, efeitos eletrônicos, parâmetros teóricos determinados por métodos empíricos e semi-empíricos e efeitos estéricos, que representam as propriedades físico-químicas dos fármacos em sua correlação com a atividade biológica (Gaudio e Zandonade, 2001).

Dentre vários métodos descritos na literatura, o de Hansch é provavelmente o modelo de relação quantitativa estrutura-atividade mais amplamente usado. Baseado em parâmetros físico-químicos, o método de Hansch utiliza *relações lineares de energia livre*, levando em consideração principalmente efeitos eletrônicos, estéricos e hidrofóbicos dos grupos substituintes (Gaudio e Zandonade, 2001; Korolkovas et al., 1988).

Hansch estudou dois processos muito complexos: o movimento do fármaco desde o ponto de aplicação ao sistema biológico até os locais de ação e a ocorrência de uma reação física ou química limitante da velocidade nos sítios receptores. Este pesquisador partiu de uma substância química de ação biológica

conhecida e comparou a sua atividade com a de compostos de estrutura análoga que dela diferiam apenas por grupos substituintes (Korolkovas et al., 1988).

Um dos problemas mais comuns no desenvolvimento de fármacos é encontrar o melhor substituinte no anel benzênico ou na porção benzenóide da estrutura de uma substância a fim de explorar os efeitos eletrônicos, hidrofóbicos ou hidrofílicos e estéricos com o objetivo de obter um composto mais potente. Com o desenvolvimento do método de Hansch, para correlação estrutura-atividade, foi possível obter uma maneira mais racional para a resolução deste problema. Subseqüentemente vários autores adotaram este método como o procedimento estratégico mais vantajoso para a seleção do substituinte (Topliss, 1977).

### **1.3.1 MÉTODO MANUAL DE TOPLISS**

Topliss desenvolveu, a partir do método de Hansch, um procedimento que não envolve metodologia estatística. Este procedimento pode ser encarado como um método manual para a aplicação do método de Hansch para o desenvolvimento de novos fármacos. Através do método manual de Topliss, um grupo de análogos contendo diferentes substituintes num anel benzênico pode ser prontamente selecionado e sintetizado (Topliss, 1977).

O grupo inicial de análogos selecionados para as sínteses consiste de cinco compostos com os seguintes substituintes: H, 4-Cl, 3,4-diCl, 4-CH<sub>3</sub> e 4-OCH<sub>3</sub>, os quais compõe a seção principal do Esquema operacional para a substituição aromática (Topliss, 1977).

As dependências paramétricas apresentadas na Tabela 1 compreendem os parâmetros físico-químicos mais comumente encontrados nas relações utilizadas por Hansch, como  $\pi$  (constante de hidrofobicidade),  $\sigma$  (constante  $\sigma$  de Hammett), e várias combinações de  $\pi \pm \sigma$ , representando as diferentes contribuições que cada um possa exercer no efeito, como também o parâmetro  $E_4$  (efeito estérico na posição 4), onde este exerça uma influência dominante.

**TABELA 1 – ORDEM DE POTÊNCIA PARA VÁRIAS DEPENDÊNCIAS PARAMÉTRICAS**

Substituintes	Parâmetros									
	$\pi$	$2\pi - \pi^2$	$\sigma$	$-\sigma$	$\pi + \sigma$	$2\pi - \sigma$	$\pi - \sigma$	$\pi - 2\sigma$	$\pi - 3\sigma$	$E_4^a$
3,4-Cl <sub>2</sub>	1	1-2	1	5	1	1	1-2	3-4	5	2-5
4-Cl	2	1-2	2	4	2	2-3	3	3-4	3-4	2-5
4-CH <sub>3</sub>	3	3	4	2	3	2-3	1-2	1	1	2-5
4-OCH <sub>3</sub>	4-5	4-5	5	1	5	4	4	2	2	2-5
H	4-5	4-5	3	3	4	5	5	5	3-4	1

<sup>a</sup> Efeito estérico desfavorável para substituinte na posição 4.

A comparação da ordem de potência (variando de 1 a 5) dos cinco compostos do grupo inicial, obtida experimentalmente, com uma ordem projetada por várias dependências paramétricas, conforme a Tabela 1, permite uma possível dedução a respeito dos parâmetros de probabilidade operativa, os quais tornam a fornecer as bases para uma nova seleção de substituintes com o objetivo de sintetizar compostos cada vez mais potentes numa série, de acordo com a Tabela 2 (Topliss, 1977).

Atualmente existem muitos métodos computacionais para o estudo de correlação estrutura-atividade (SAR) e correlação estrutura-atividade quantitativa (QSAR) (Rastelli et al., 1991; Recanatini e Cavalli, 1998).

**TABELA 2 – NOVA SELEÇÃO DE SUBSTITUINTES**

Prováveis parâmetros operativos	Nova seleção de substituinte
$\pi, \pi + \sigma, \sigma$	3-CF <sub>3</sub> , 4-Cl; 3-CF <sub>3</sub> , 4-NO <sub>2</sub> ; 4-CF <sub>3</sub> ; 2,4-Cl <sub>2</sub> ; 4-c-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> ; 4-c-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>
$\pi, 2\pi - \sigma, \pi - \sigma$	4-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ; 4-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ; 3,4-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ; 4-O(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> ; 4-OCH <sub>2</sub> Ph; 4-N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>
$\pi - 2\sigma, \pi - 3\sigma, -\sigma$	4-N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> ; 4-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ; 4-NH <sub>2</sub> ; 4-NHC <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ; 4-OH; 4-OCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ; 3-CH <sub>3</sub> , 4-OCH <sub>3</sub>
$2\pi - \pi^2$	4-Br; 3-CF <sub>3</sub> ; 3,4-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ; 4-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ; 4-O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ; 3-CH <sub>3</sub> , 4-Cl
E <sub>4</sub>	3-Cl; 3-CH <sub>3</sub> ; 3-OCH <sub>3</sub> ; 3-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ; 3-CF <sub>3</sub> ; 3,5-Cl <sub>2</sub>
Efeito orto	2-Cl; 2-CH <sub>3</sub> ; 2-OCH <sub>3</sub> ; 2-F
Outros	4-F; 4-NHCOCH <sub>3</sub> ; 4-NHSO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ; 4-NO <sub>2</sub> ; 4-COCH <sub>3</sub> ; 4-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ; 4-CONH <sub>2</sub> ; 4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>

Fonte: TOPLISS J. G. *J. Med. Chem.* v. 20, n. 4, p. 464, 1977. (c-: ciclo).

O método manual de Topliss, embora não dependa de computadores, ainda é muito útil no desenvolvimento de novos fármacos, por depender de uma pequena quantidade de compostos a serem sintetizados. No entanto, como outros métodos, ele também possui suas limitações. Dependendo da complexidade da estrutura, o substituinte no anel benzênico pode não influenciar de uma maneira significativa as suas propriedades, tais como reatividade, coeficiente de solubilidade e até mesmo a interação fármaco-receptor.

### 1.3.2 MODELAGEM MOLECULAR

O desenvolvimento de novos fármacos é um processo lento e dispendioso. Atualmente o auxílio de computadores neste processo tem proporcionado uma diminuição no número de estruturas sintetizadas e um aumento cada vez mais significativo do grupo de estruturas que são testadas, avaliadas e tornam-se medicamentos. Os avanços mais recentes na área de

informática como computadores pessoais com capacidade de processar informações cada vez mais rapidamente, com maior capacidade de armazenamento de dados e com custos relativamente mais baixos, juntamente com programas específicos para a área da química, como Mopac e Hyperchem, por exemplo, tornaram as pesquisas nesta área do conhecimento mais difundidas e mais rápidas (Stewart, 1989).

Revistas científicas de grande circulação tem divulgado um grande número de artigos envolvendo química orgânica computacional. A Modelagem Molecular, nas suas várias formas, está sendo utilizada diariamente para resolver problemas de mecanismos de reações e de síntese (Hori et al., 1997; Smith, 1996). A cada ano representantes comerciais colocam a disposição um grande número de programas de computador para serem utilizados na química orgânica.

A Modelagem Molecular é o conjunto de técnicas da Química Computacional que permite prever, dentre outras coisas, a estrutura e a energia de diferentes estados de um mesmo sistema molecular, bem como as mesmas variam ao longo de uma reação química.

A Química Computacional é um ramo da química que usa técnicas computacionais para criar modelos de sistemas químicos reais. Propriedades do modelo são computadas e comparadas com dados experimentais. Se o modelo teórico formulado fornecer resultados comparáveis com aqueles experimentais, ele poderá ser utilizado com finalidade preditiva.

A expansão do uso da Química Computacional é um resultado do crescimento rápido e contínuo da capacidade de computação nos últimos 40

anos. Sistemas moleculares cada vez mais complexos são processados em períodos de tempo cada vez menores.

A descrição de um sistema molecular pode ser conseguida pela resolução da equação de Schrödinger. O método semi-empírico AM1 (Austin Model 1) consiste de um hamiltoniano aproximado para o sistema, onde parâmetros experimentais foram incluídos (Dewar et al., 1985). Este modelo evita a utilização de procedimentos *ab initio*, os quais requerem mais tempo de computação, bem como computadores mais potentes (Boyle, 1999; Dewar et al., 1985; Rastelli et al., 1991; Smith, 1996; Yatsenko e Paseshnichenko, 1999).

Este método é muito utilizado para correlacionar alguma propriedade física ou química com dados de resultados de atividade biológica. Existem vários outros hamiltonianos que podem ser usados em micro computadores, bastante citados na literatura, como por exemplo, ZINDO (Zerner's Intermediate Neglect of Differential Overlap), MNDO (Modified Neglect of Differential Overlap) e PM3 (Parametric Method 3) entre outros (Barone et al., 1999; Boyle 1999; Dewar et al., 1985; Pratt e Robbins, 1999; Sant'Anna e Souza, 2001; Smith, 1996; Türker, 1999; Yatsenko e Paseshnichenko, 1999).

Esses métodos computacionais são utilizados para a determinação, através de cálculos baseados nos diversos modos de resolução da equação de Schrödinger, do confôrmero de menor energia de uma molécula, bem como diversas propriedades físicas e químicas, tais como, calor de formação, momento de dipolo,  $pK_a$ , densidade de cada átomo, Log P, comprimentos e ângulos de ligações, energia de todos os orbitais e dos orbitais de fronteira (HOMO e LUMO), entre outras. Tais propriedades são utilizadas em estudos de modelagem

molecular, sendo correlacionadas com propriedades determinadas experimentalmente. Na Química Medicinal e em estudos de SAR / QSAR, propriedades físico-químicas experimentais e obtidas através de cálculos computacionais são correlacionadas com dados de atividade biológica.

A Química Medicinal estuda as razões moleculares da ação dos fármacos de maneira a descrever a relação entre a estrutura química e a atividade farmacológica, ordenando as diferentes contribuições de cada função. Por outro lado, a Química Medicinal, inclui também o planejamento e o desenho estrutural de novas estruturas químicas que possuam propriedades farmacológicas úteis, capazes de representar novas substâncias, candidatas a protótipos de novos fármacos. (Barreiro e Fraga, 2001).

As correlações, qualitativas (SAR - Structure Activity Relationship) e quantitativas (QSAR - Quantitative Structure Activity Relationship) entre a estrutura química e a atividade biológica, tornaram-se metodologias eficientes no estudo do desenvolvimento de novos fármacos (Barreiro et al., 2002); Gaudio e Zandonade, 2001; Hansch et al., (1990). A partir de uma substância com atividade biológica, cuja estrutura é conhecida, pode-se propor um estudo de SAR na tentativa de se determinar qual parte da molécula é mais importante para referida atividade. Seleciona-se um número significativo de substâncias com pequenas variações estruturais a partir da estrutura original e estuda-se qual o efeito sobre a atividade biológica (Barreiro e Fraga, 2001; Patrick, 1998).

No estudo de QSAR pretende-se identificar e quantificar as propriedades físico-químicas de um grupo de substâncias homólogas verificando o efeito destas sobre a resposta biológica. A correlação entre estas propriedades



é obtida empregando-se procedimentos matemáticos e estatísticos que irão permitir o estabelecimento de equações ou outros modelos que poderão ser utilizados no planejamento sobre novas sínteses e em testes biológicos de substâncias mais promissoras que as originalmente estudadas (Gaudio e Zandonade, 2001; Rainer, 1984).

A construção dos modelos requer a elaboração de um conjunto de dados contendo a medida quantitativa da atividade biológica e os parâmetros físico-químicos e estruturais capazes de descrever as propriedades dos compostos. O conjunto de dados contém os valores da atividade biológica e das variáveis descritivas referentes aos compostos. O conjunto de dados é a matéria prima para a construção dos modelos matemáticos, que em geral são lineares e multidimensionais (Ferreira et al., 2002).

Na literatura constam vários trabalhos de SAR e QSAR onde são empregados parâmetros físico-químicos empíricos e parâmetros teóricos, obtidos a partir das constantes dos substituintes ou de subunidades estruturais (Barreiro et al., 2002; Cechinel Filho e Yunes, 1998; Gaudio e Zandonade, 2001; Hansch et al., 1973; Lucero e Houk, 1998; Singh e Sharma, 1990).

Métodos mais modernos e avançados, envolvendo estudos de SAR e QSAR, para computadores pessoais e computadores mais potentes são muito utilizados atualmente no desenvolvimento de novos fármacos e estão descritos na literatura, como por exemplo, PKUDDS (Peking University Drug Design System) (Hou e Xu, 2001), Comfa (Comparative Molecular Field Analysis) entre outros (Pratt e Robbins, 1999; Recanatini e Cavalli, 1998).

Como já citado anteriormente, este trabalho envolve um estudo de correlação estrutura-atividade qualitativo (SAR), utilizando o Método Manual de Topliss e um estudo de Modelagem Molecular utilizando o método semi-empírico AM1 (Dewar et al., 1985), com o objetivo de estabelecer os confôrmeros mais estáveis para as benzoossulfonilaziridinas e correlacionar seus parâmetros eletrônicos teóricos com dados experimentais, como deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $\text{pK}_a$ , dados da literatura, como constantes dos substituintes e com resultados de atividade biológica.

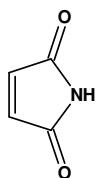
#### **1.4 IMIDAS BIOLOGICAMENTE ATIVAS**

As imidas são bastante conhecidas pela diversidade de suas aplicações. Biologicamente são utilizadas como reguladores fisiológicos, fungicidas, bactericidas e inseticidas. Farmacologicamente são usadas como sedativos, hipnóticos, anticonvulsivantes, agentes anti-hipertensivos, diuréticos, agentes na quimioterapia da tuberculose e câncer, antagonistas de barbituratos e agentes antimitóticos, além de várias outras aplicações. Industrialmente possuem várias aplicações, dentre elas, na produção de polímeros sintéticos, agentes vulcanizadores e aditivos de lubrificantes (Cechinel et al., 2003; Hargreaves et al., 1970).

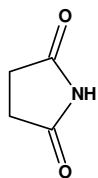
O interesse farmacêutico pelos derivados imídicos foi renovado devido ao isolamento de imidas de origem natural, até há pouco tempo, um fato desconhecido. Curiosamente, estas imidas cíclicas naturais aparecem em plantas utilizadas empiricamente na medicina popular (Cechinel et al., 2003; Tempesta et al., 1988). O Laboratório de Síntese e Estrutura-Atividade – LABSEAT do

Departamento de Química da UFSC, Liderado pelo Prof. Ricardo José Nunes, vem trabalhando na síntese de imidas cíclicas de interesse farmacêutico há mais de 15 anos.

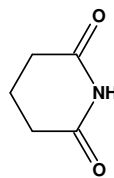
As imidas e seus derivados, especialmente os da maleimida (**5**), succinimida (**6**) e glutarimida (**7**), são amplamente utilizados como agentes medicinais no tratamento de várias enfermidades, entre elas, artrite, tuberculose, esquizofrenia, ansiedade e epilepsia, bem como no tratamento de vários tipos de infecções (Hargreaves, 1970; Kalgutkar et al., 1996).



(5)



(6)

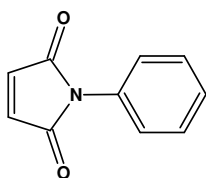


(7)

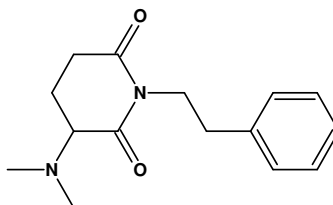
A N-fenilmaleimida (**8a**) e alguns de seus análogos foram bastante utilizados como fungicidas de solo nos anos 60 (Hargreaves, 1970). A filantimida (**9**), foi isolada pela primeira vez a partir de extratos de *Phyllanthus sellowianus* (uma Euforbiácea) e demonstrou possuir moderado efeito antimicrobiano, antiespasmódico e analgésico (Tempesta et al., 1988).

A filantimida (**9**) foi usada como protótipo para a síntese de inúmeros análogos (Cechinel Filho et al., 2003). Esses análogos N-arilalquilmaleimidas e succinimidas foram sintetizados e testados, apresentando atividades antibacteriana, fungicida, antiespasmódica e analgésica (Cechinel Filho, 1995; Cechinel Filho et al., 2003).

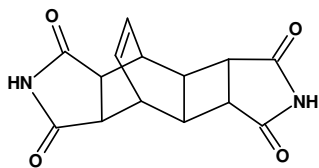
Cloromaleimidas e derivados sulfonílicos, recentemente desenvolvidos pelo grupo do professor Ricardo José Nunes (LABSEAT – UFSC) foram testadas e se mostraram potentes analgésicos (Walter et al., 2004).



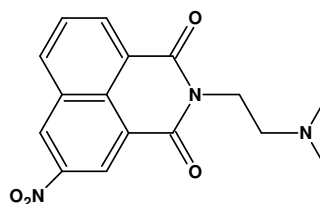
(8a)



(9)



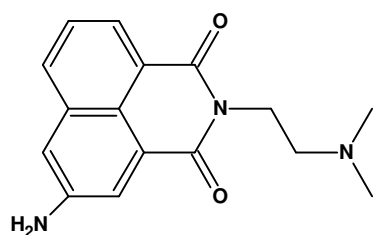
(10)



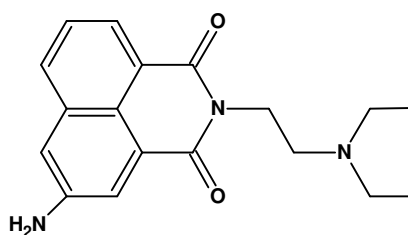
(11)

A literatura cita ainda diimidas que foram sintetizadas e testadas e apresentaram importante atividade antitumoral, como é o caso da mitindomida (**10**) (Deutsch et al., 1986).

A mitonafida (**11**) apresentou atividade contra vários tipos de tumores e já está sendo utilizada na terapêutica (Cechinel Filho et al., 2003). Outro exemplo é o derivado amonafida (**12**), o qual apresentou atividade contra adenocarcinoma de mama e próstata. O derivado da amonafida, o composto (**13**), apresentou pronunciada atividade antileucêmica *in vivo* (Cechinel Filho et al., 2003).

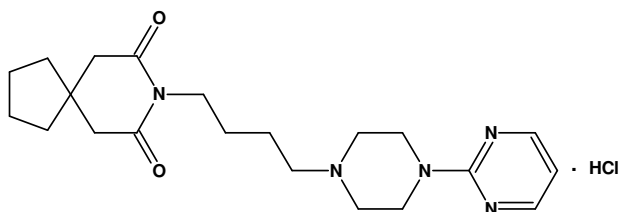


(12)



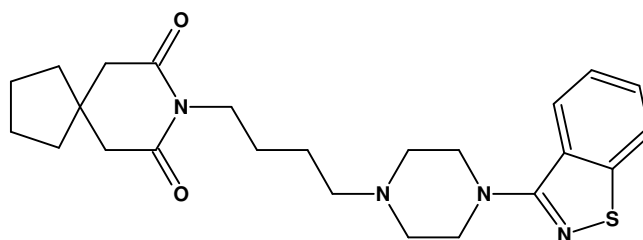
(13)

A buspirona (**14**) se mostrou eficaz no tratamento da ansiedade, em testes clínicos, e já está disponível no mercado, como medicamento. Análogos da buspirona foram avaliados como agentes ansiolíticos, antidepressivos e antipsicóticos (Cechinel Filho et al., 2003; Cipollina et al., 1991; Goodman et al., 1991; New et al., 1986).



(14)

Um exemplo desta nova classe de fármacos antipsicóticos é a tiospirona (**15**), já utilizada na terapêutica, tendo demonstrado reduzidos efeitos colaterais (Cechinel Filho et al., 2003).



(15)

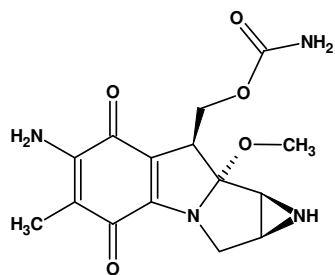
Diversos derivados imídicos apresentam atividade semelhante à de fármacos que atuam no sistema nervoso central (SNC), mostrando que muitas imidas cíclicas também possuem essa atividade (Cechinel Filho et al., 2003; Cipollina et al., 1991; Goodman et al., 1991; New et al., 1986; Stratford et al., 1983).

### **1.5 AZIRIDINAS BIOLOGICAMENTE ATIVAS**

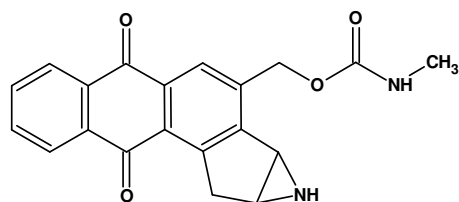
As aziridinas, assim como as imidas, também são conhecidas pelas suas aplicações farmacológicas. Diversos compostos contendo anéis aziridínicos têm sido sintetizados, muitos dos quais apresentaram significativa atividade antitumoral. Um exemplo disto é o poderoso antibiótico mitomicina C (**16**), um biorredutor de células em hipóxia, o qual está sendo utilizado no combate ao câncer de estômago e pulmão, entre outros (De Oliveira e Alves, 2002; Kumar et al., 1996; Pratt et al., 1994).

A mitomicina C (**16**) tem seu uso limitado devido a efeitos colaterais, como danos gastrintestinais. Em razão disso, a mitomicina C tem sido utilizada como protótipo na síntese de novas substâncias buscando reduzir a toxicidade e aumentar a eficácia (De Oliveira e Alves, 2002).

O composto (**17**), é um exemplo desses análogos, que foi sintetizado e testado, apresentando atividade inibitória contra várias linhagens de células de tumores sólidos e leucêmicos (Kim et al., 1996).

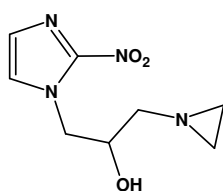


(16)

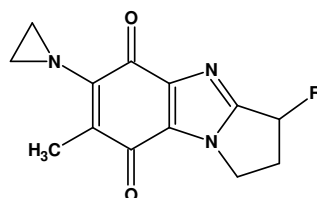


(17)

Análogos do composto (18) demonstraram ser potentes radiosensibilizadores, porém não passaram da fase 1 de testes clínicos, por apresentarem importantes efeitos colaterais. Modificações estruturais mantendo a função aziridina resultaram em compostos com atividade significativa, os quais são candidatos a posteriores avaliações *in vivo* (Suto et al., 1991).



(18)

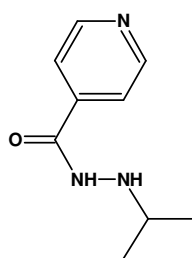


(19)

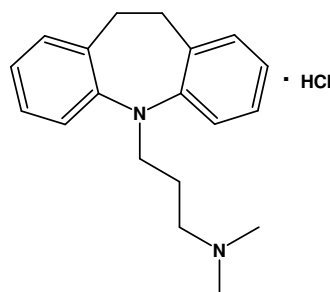
A atividade citotóxica, de uma série de aziridinil quinonas (19), foi avaliada contra 60 linhagens de células cancerígenas. Estas substâncias apresentaram um espectro de citotoxicidade diferente de qualquer agente antitumoral utilizado na clínica (são inativos contra leucemia, porém ativos contra câncer de cólon, do SNC, de ovário, renal e melanoma). Os autores atribuem a citotoxicidade a alquilação do DNA pela porção aziridínica das estruturas (Skibo e Schulz, 1993).

## 1.6 FÁRMACOS ANTIDEPRESSIVOS

Os fármacos que atuam no SNC podem deprimir, modificar ou estimular as suas funções. A era moderna do tratamento da depressão com fármacos começou na década de 50, quando foi observado que a iproniazida (**20**), usada para tratamento da tuberculose, melhorava o humor desses pacientes (Deitos et al., 1999; Goodman et al., 1991; Korolkovas et al., 1988).



(20)

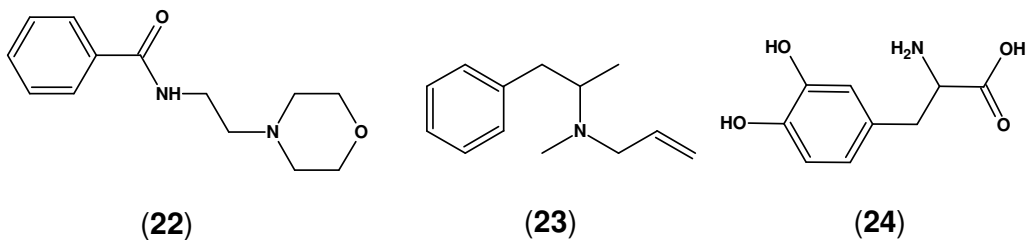


(21)

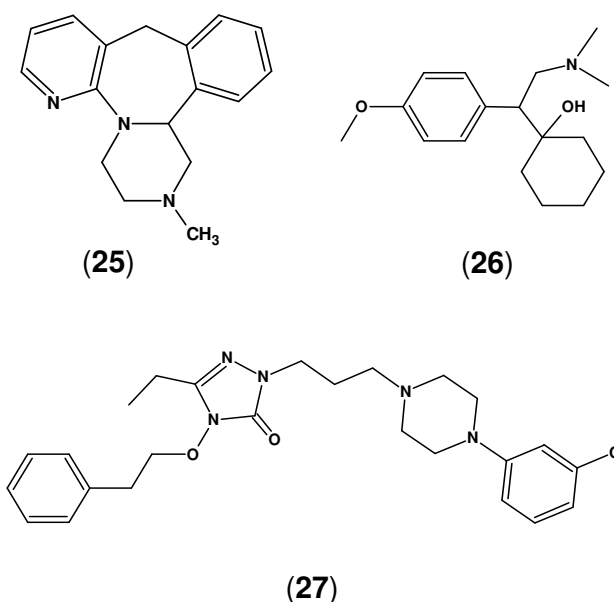
A imipramina (**21**) foi desenvolvida com a esperança de que fosse mais efetiva como agente antipsicótico. Embora a imipramina (**21**) não exiba uma eficácia antipsicótica, ela se revelou efetiva no tratamento da depressão (Deitos et al., 1999; Eberlein et al., 1987; Goodman et al., 1991; Martini et al., 1980).

Desde então, vários fármacos antidepressivos foram desenvolvidos, como por exemplo, a moclobemida (**22**) e a selegilina (**23**), a qual é usada juntamente com a L-dopa (**24**) no tratamento da doença de Parkinson (Deitos et al., 1999; Haefely et al., 1992; Kelley et al., 1996; Korn et al., 1986; Prasad et al., 1988).





Outros exemplos são os últimos antidepressivos desenvolvidos, como a mirtazapina (25), a venlafaxina (26) e a nefazodona (27) (Haefely et al., 1992; Suto et al., 1991).



Devido a um número relativamente pequeno de fármacos existentes no mercado que são utilizados no tratamento da depressão, e devido aos seus diversos efeitos colaterais importantes, existe a necessidade do estudo de modificação estrutural, na tentativa de desenvolver ou descobrir uma nova classe de medicamentos, que possam vir a manter ou aumentar a potência da atividade desejada, e ao mesmo tempo diminuir os efeitos tóxicos.

## 1.7 FÁRMACOS ANTICANCER

O câncer é uma doença caracterizada pela multiplicação e disseminação descontrolada de formas anormais de células do organismo. Atualmente é uma das principais causas de morte nos países desenvolvidos (Rang e Dale, 1993).

Os principais tipos de tratamento do câncer são excisão cirúrgica, irradiação e quimioterapia. A quimioterapia com substâncias citotóxicas é utilizada para o tratamento de poucos tipos de cânceres mas a sua utilização está crescendo, como coadjuvante da cirurgia e da irradiação, em diversos tipos de tumores comuns (Rang e Dale, 1993).

Nas últimas décadas, esforços têm sido dirigidos no sentido de desenvolver fármacos anticancerígenos através de métodos empíricos e técnicas racionais. Após a identificação de novos fármacos com possível atividade anticancerígena (através de um ensaio simples de colônias *in vitro*), eles são submetidos a estudos toxicológicos pré-clínicos e a estudos farmacológicos em animais. Os agentes que não exibem toxicidade excessiva são submetidos a provas clínicas de fase I, nas quais seus efeitos farmacológicos e tóxicos são testados em pacientes com câncer avançado. Nas provas clínicas de fase II se estabelecem os tipos de tumores, para os quais o fármaco é eficaz. Por último nas provas clínicas de fase III o fármaco é comparado com a melhor terapêutica convencional e subseqüentemente o novo medicamento pode ser licenciado para uso na prática (Katzung, 1995).

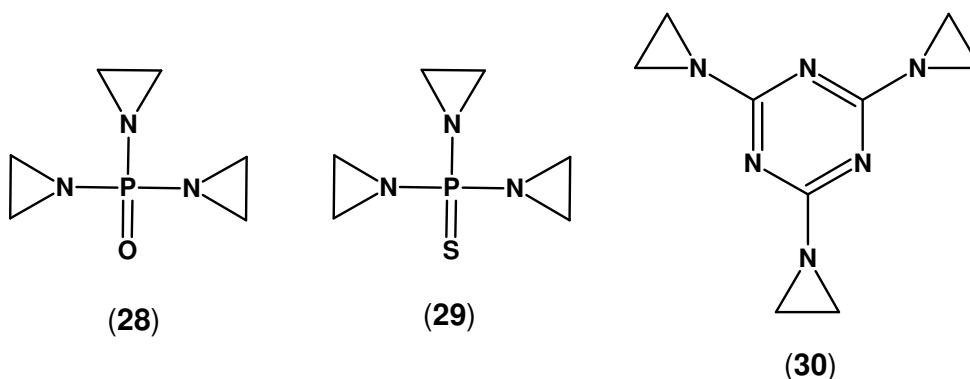
As duas principais categorias de medicamentos utilizadas no tratamento do câncer são os fármacos citotóxicos e os hormônios. Dentre os

fármacos citotóxicos, se destacam os agentes alquilantes, os quais através de seus grupos alquila, possuem a propriedade de formar uma ligação covalente com substâncias nucleofílicas das células, principalmente o DNA impedindo sua replicação (Rang e Dale, 1993).

A maioria dos agentes alquilantes é bifuncional, isto é, possui dois grupos alquilantes e é capaz de fazer ligação cruzada intra ou intercadeia. Isto pode interferir não apenas na transcrição como também na replicação do DNA, representando provavelmente o efeito crítico dos agentes alquilantes antineoplásicos. Os agentes alquilantes monofuncionais, na sua maioria, são mais mutagênicos e carcinogênicos do que citotóxicos (Rang e Dale, 1993).

Os principais agentes alquilantes possuem uma estrutura contendo bis(cloroetil)amina, etilenimina (aziridina) ou nitrosouréia (Katzung, 1995).

As aziridinas como a tepa (**28**), tiotepa (**29**) e a trietilenomelamina (**30**) são utilizados principalmente no tratamento do câncer ovariano (Katzung, 1995).



A tiotepa (**29**) tem sido utilizada na terapia do câncer há mais de 40 anos. A tiotepa possui um amplo espectro de atividade anticancerígena e é muito utilizada no tratamento do câncer de mama, de ovário e outros tumores sólidos (Paci et al., 2001).

Os agentes alquilantes exercem seus efeitos citotóxicos através da transferência de seus grupos alquila para vários componentes celulares. A alquilação do DNA no interior do núcleo representa, provavelmente, a principal interação que provoca letalidade celular. A ligação cruzada do DNA parece ser de grande importância para a ação citotóxica dos agentes alquilantes, sendo que as células em fase de replicação estão mais sujeitas a essas substâncias (Katzung, 1995).

Vários agentes alquilantes novos estão sendo pesquisados, mas com nenhum deles foi possível até agora, conseguir uma alquilação dirigida e bem sucedida (Katzung, 1995).

A tentativa de descobrir novos compostos que possam apresentar atividade citotóxica é de fundamental importância nas pesquisas que buscam por novos fármacos que venham a ajudar no combate ao câncer.

## **1.8. AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL (SNC)**

Existe a necessidade e o interesse acadêmico e industrial em se achar alternativas terapêuticas economicamente mais vantajosas, seja do ponto de vista de inovação ao nível de mecanismos de ação, seja do ponto de vista de custo ou ainda da aceitação popular.

Nosso país tem desenvolvido substancialmente sua capacidade científica, tanto na área química como farmacológica. Porém, a indústria farmacêutica genuinamente nacional é ainda muito incipiente. Dada à importância econômica que seria para o país o domínio tecnológico na área farmacêutica, tanto na geração de empregos como na economia de reservas, necessita-se definitivamente investir na integração das capacidades acadêmicas, para desenvolver recursos técnicos e humanos que facilitem e estimulem a indústria local.

A proposta deste trabalho foi a de realizar, em conjunto com a Coordenadoria Especial de Farmacologia da UFSC (CEF – UFSC), um estudo neurofarmacológico de substâncias puras, sintetizadas a partir de modificação estrutural de compostos sintéticos ou de origem vegetal, com atividade biológica conhecida e comprovada. Posteriormente, baseando-se nesse estudo, direcionar novas sínteses até que alguns efeitos farmacológicos considerados de alta relevância clínica sejam obtidos.

Dado o histórico das imidas, o presente trabalho tentou realizar um estudo mais profundo sobre os principais efeitos de análogos destes compostos, com o objetivo de caracterizar novas possibilidades farmacêuticas para vários distúrbios do sistema nervoso central, bem como para a dor.

Os estudos de um novo medicamento são divididos em etapas sequenciais que se diferenciam essencialmente pelo sujeito da experimentação. No que concerne à atual proposição de trabalho, distinguem-se essencialmente as duas primeiras etapas:

- A etapa **química**, relacionada ao preparo do pró-fármaco para administração, com a garantia da uniformidade da amostra e com sua estabilidade durante os testes pré-clínicos e clínicos.

- A etapa **farmacêutica**, relacionada aos ensaios biológicos pré-clínicos, farmacodinâmicos, farmacocinéticos e toxicológicos em animais de laboratório.

A primeira preocupação destes testes pré-clínicos é mostrar a eficácia do material, pois sem ela não há razão para o estudo. Como não existem testes de novos fármacos sem risco intrínseco de reações adversas, o objetivo principal da etapa pré-clínica é determinar experimentalmente o grau de segurança para os testes em seres humanos.

As especificidades das ações detectadas em todos estes testes devem ser comprovadas frente a agonistas e antagonistas bem conhecidos, de tal forma a permitir a interpretação dos resultados com base nos conhecimentos científicos atuais. Desta análise resultará a formulação de um mecanismo de ação hipotético a ser comprovado com novas experiências. Por sua vez, o conhecimento do mecanismo de ação permitirá a previsão das ações mais prováveis em outros sistemas vitais, o aparecimento de reações adversas e a forma de tratá-las.

Em conjunto com o grupo de neurofarmacologia da CEF – UFSC, liderado pela Professora Thereza Cristina Lima, foi avaliado em uma bateria de testes comportamentais em ratos e camundongos, preditivos para fármacos farmacologicamente ativos na ansiedade, psicoses, depressão, vários tipos de epilepsias, vários tipos de dor clínica e para a inflamação.

Esta avaliação preliminar permitiria prever que tipos de substituições posteriores poderão ser feitas em cada estrutura, para se aumentar ou diminuir seletivamente, os efeitos observados nos vários modelos experimentais.

A meta final deste projeto seria descobrir as moléculas mais viáveis para um desenvolvimento específico em cada uma das categorias de modelos experimentais em questão: ansiedade, depressão, epilepsia, dor e inflamação, as quais serão objeto de estudo de potenciais projetos futuros, os quais visarão o aumento de seletividade para as patologias estudadas.

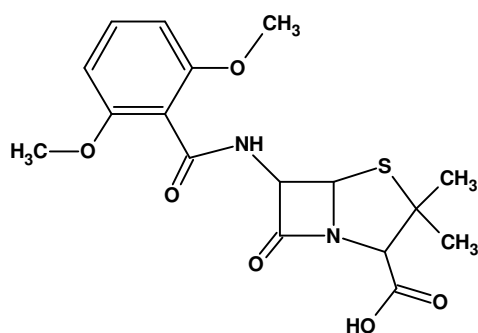
As atividades farmacológicas escolhidas, para os testes, devem-se principalmente ao histórico das imidas e também porque na atualidade, dentre as principais áreas terapêuticas, em termos de mercado consumidor, estão aquelas relativas aos compostos com ação analgésica/antiinflamatória e os de atividade sedativa/ansiolítica ou antidepressiva.

## **1.9 BIOENSAIO COM BACTÉRIAS E FUNGOS**

A busca por substâncias que apresentem atividade antimicrobiana é amplamente justificada devido ao elevado perfil de resistência que vem sendo observado dentro da microbiologia médica.

As bactérias da espécie *Staphylococcus aureus* são bactérias gram-positivas, envolvidas em uma série de processos infecciosos de grande importância na clínica médica humana e veterinária. Em humanos, *S. aureus* é a principal causa das infecções nosocomiais. Nas décadas mais recentes, a prevalência aumentada de cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina (**31**) tem

se tornado uma dificuldade adicional no problema do controle de infecção em medicina humana (Ayliffe, 1997; De Lencastre et al., 1996; Cohen et al., 1991).



(31)

A metilina (31) é um bactericida, semi-sintético derivado da penicilina, para a espécie *S. aureus* em concentrações de 1 a 6  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Microorganismos que são inibidos em concentrações acima de 12,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  são considerados resistentes (Goodman et al., 1991).

O gênero *Escherichia coli* representa bactérias gram-negativas entéricas largamente disseminadas no ambiente, e apresenta cepas tais como a EHEC O157: H7 de alto potencial patogênico, responsável por milhares de surtos de toxinfecções alimentares. Além do impacto sobre a saúde, a *E. coli* é um dos mais bem estudados modelos bacterianos, e nos últimos anos vem apresentando uma drástica mudança em seu perfil de sensibilidade aos antimicrobianos (Jawetz et al., 2000).

O gênero *Pseudomonas aeruginosa*, também uma bactéria gram-negativa, apresenta elevada capacidade de adquirir resistência a antibióticos, o que a torna um patógeno perigoso e temido, uma vez que determina infecções invasivas e toxinogênicas, especialmente em ambiente hospitalar, as chamadas



infecções nosocomiais, causando risco de morte devido à dificuldade de tratamento (Arruda, 1998).

Para avaliação da atividade antifúngica, escolheu-se utilizar leveduras da espécie *Candida albicans*, de indiscutível importância epidemiológica nas infecções oportunistas determinadas por fungos. Embora, nas duas últimas décadas, mudanças significativas venham ocorrendo na epidemiologia da candidemia, devido à diversificação das espécies envolvidas, a crescente resistência que os fungos vem demonstrado aos derivados azólicos tem apontado para a busca de novas opções terapêuticas. Outro aspecto a ser considerado é a elevada toxicidade das substâncias antifúngicas de eleição disponíveis comercialmente (Jawetz et al., 2000).

#### **1.10 BIOENSAIO DE TOXICIDADE GERAL E CITOTOXICIDADE**

A *Artemia salina* Leach (*Artemiidae*) é um microcrustáceo, encontrado em ecossistemas aquático salgados e ecossistemas marinhos, onde desempenha um importante papel no fluxo de energia da cadeia alimentar. As larvas da *Artemia salina* Leach são utilizadas em laboratórios num bioensaio para determinar a toxicidade de substâncias químicas, naturais ou sintéticas, através dos valores de CL<sub>50</sub> (Concentração Letal capaz de reduzir em 50 % a população) (Parra et al., 2001).

O bioensaio da *Artemia salina* é de fácil realização, baixo custo e utiliza pequenas quantidades de material. O método tem por finalidade uma avaliação primária que serve de apoio para testes mais específicos e de custos mais altos. O teste de letalidade tem sido utilizado em vários sistemas de

bioensaios, através dos quais são analisados resíduos de pesticidas, micotoxinas, anestésicos, substâncias carcinogênicas entre outros (Meyer et al., 1982; Siqueira et al., 1998). Alguns autores relacionam a toxicidade geral frente a *Artemia salina* com citotoxicidade e conseqüentemente atividade anticâncer (Almeida et al., 2002; Mc Laughlin, 1991; Meyer et al., 1982).

O ensaio de toxicidade geral utiliza ovos de *Artemia salina* Leach, os quais podem ser adquiridos comercialmente a baixo custo e podem ser usados, por vários anos, quando mantidos secos e refrigerados.

Os ovos quando colocados em solução aquosa de sal marinho eclodem no período de 48 horas e as larvas são atraídas por luz artificial. As substâncias são testadas em várias concentrações, por replicata, em tubos de ensaio contendo água do mar artificial e um número determinado de larvas. Após 24 horas as larvas mortas e vivas são contadas e os valores da CL<sub>50</sub> calculados utilizando metodologia estatística adequada (Meyer et al., 1982; Siqueira et al., 1998).

## 2 OBJETIVOS

O trabalho tem como objetivo principal, a síntese, separação caracterização e avaliação de propriedades farmacológicas, tais como, ação no sistema nervoso central (SNC), atividade antinoceptiva, antibiótica, antitumoral e de toxicidade geral da série de benzenossulfonilaziridinas. Para tal este trabalho envolve um estudo de correlação estrutura-atividade qualitativa (SAR) que correlaciona dados de atividade biológica com propriedades físico-químicas experimentais e teóricas. Desenvolve-se ainda um estudo de Modelagem Molecular que correlaciona propriedades físico-químicas experimentais, tais como  $pK_a$ , deslocamentos químicos de RMN  $^{13}C$  e constantes dos substituintes, retiradas da literatura,  $\sigma$  de Hammett e **F** e **R** de Swain Lupton (Martin, 1978; Hansch et al., 1995), com parâmetros eletrônicos teóricos, obtidos através de cálculo teórico, utilizando o método semi-empírico AM1 (Dewar et al., 1985).

### 2.1 ETAPAS METODOLÓGICAS

Com o intuito de atingir os objetivos neste trabalho, enumerou-se as seguintes etapas metodológicas:

1. Síntese, separação e caracterização de uma série de compostos aziridínicos isoméricos ainda não descritos na literatura;
2. Determinação experimental dos  $pK_a(s)$  dos compostos através do método potenciométrico;

3. Realização de ensaios farmacológicos, através do Teste do Desespero Comportamental (TDC), para avaliar a atividade antidepressiva apresentada pelos compostos sintetizados;

4. Avaliação de possível atividade antinoceptiva e antibiótica que os compostos possam vir a apresentar;

5. Realização de ensaios farmacológicos frente a *Artemia salina*, para verificar a toxicidade geral dos compostos;

6. Estudo de potenciais atividades antitumorais, através de ensaios específicos com cultura de células cancerosas;

7. Aplicação do método manual de Topliss a partir da ordem de potência obtida com o resultado dos ensaios farmacológicos;

8. Estudo qualitativo de correlação estrutura-atividade, para prever as novas modificações moleculares, a fim de obter novos compostos farmacologicamente mais potentes em uma série.

9. Estabelecer os confôrmeros mais estáveis e determinar seus respectivos parâmetros eletrônicos teóricos, como energia dos orbitais de fronteira (HOMO e LUMO), calor de formação, momento de dipolo, densidade e carga formal de cada átomo, através do método semi-empírico AM1. Estes parâmetros serão correlacionados com aqueles empíricos tabelados ( $\sigma$ , F e R), com os deslocamentos de RMN  $^{13}\text{C}$ , com os valores de pKa experimentais e com os resultados dos testes de atividade biológica, na tentativa de identificar-se algum comportamento sistemático;

10. Realização de um estudo de Modelagem Molecular a fim de obter as melhores relações lineares de energia livre entre os parâmetros eletrônicos teóricos e eletrônicos empíricos tabelados ( $\sigma$ , **F** e **R**) com os deslocamentos de RMN  $^{13}\text{C}$ , com os valores de  $\text{pK}_a(\text{s})$  e com os resultados de atividade biológica;

11. Investigação da existência de alguma correlação linear entre os valores de  $\text{pK}_a$  teóricos, calculados por métodos *ab initio*, e aqueles experimentais

### 3 PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 REAGENTES E INSTRUMENTAÇÃO

Foram utilizados reagentes e solventes de grau P. A. e purificados segundo métodos citados na literatura (Perrin e Armarego, 1988). Na cromatografia de camada delgada (CCD), utilizaram-se placas de alumínio com sílica gel 60 F-254 com 0,2 mm de espessura.

Na cromatografia de coluna utilizou-se sílica gel, Merck 9385, 230-400 mesh, 60 Å.

Para a determinação do ponto de fusão (P.F.) utilizou-se um aparelho Microquímica modelo MQRPF-301.

Para análise de CHN utilizou-se um analisador elementar CHN PERKIN ELMER 2400.

As análises de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram realizadas em um equipamento Bruker modelo AC-200F usando TMS como padrão interno e  $\text{CDCl}_3$  como solvente.

A análise por difração de raios x do derivado aziridínico *endo-endo* (**2m**) foi feita em um difratômetro automático ENRAF-NONIUS CAD-4.

Os  $\text{pK}_a(\text{s})$  foram determinados utilizando-se o potenciômetro da Metrohm Herisau, modelo E 539 acoplado a uma bureta automática, Dosimat modelo 665 com agitador magnético E 549. Foi utilizado o eletrodo de vidro combinado, CH 9100 da marca Metrohm Herisau.

Os pH(s) das soluções tampão foram determinados utilizando-se um pHmetro da Metronal, modelo E 120.

Os cálculos teóricos semi-empíricos foram realizados através dos programas PCWIN e MOPAC 6.0 (Stewart, 1989), os quais utilizam métodos de mecânica molecular e semi-empírico respectivamente.

A pré-otimização das energias e a confecção das matrizes trabalhadas pelo MOPAC foram realizadas com o programa PCWIN (PCMODEL).

O Hamiltoniano escolhido foi o AM1 (Austin Model 1) e as palavras-chave utilizadas foram: PRECISE, BONDS, VECTORS, GRAD, EF e CHARGE.

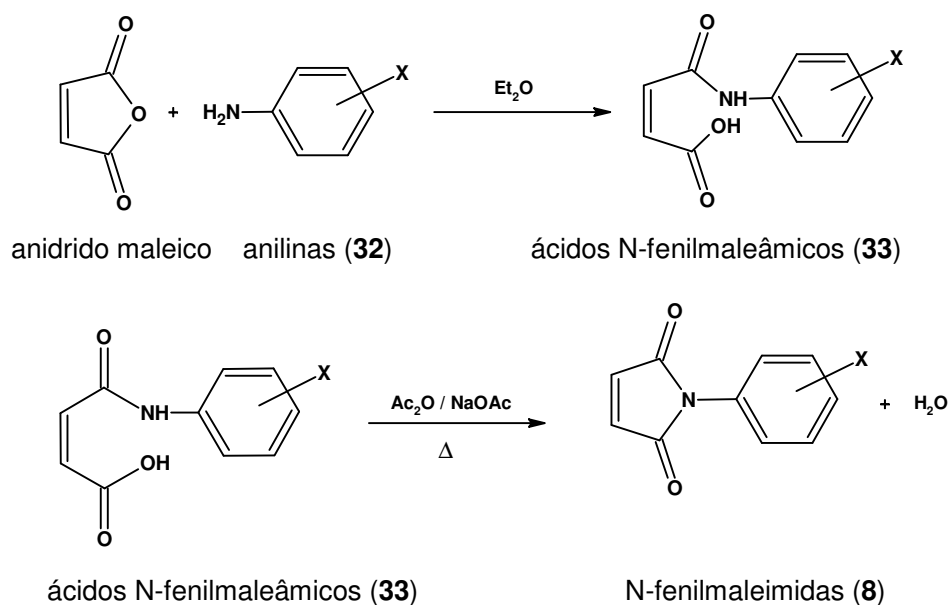
Os cálculos foram realizados em um micro computador com processador AMD Athlon de 1.0 GHz e 128 Mb de memória RAM.

As correlações lineares de energia livre e os gráficos correspondentes foram obtidos utilizando-se o programa estatístico Origin 5.0 para microcomputador.

Os cálculos *ab initio* foram realizados no Departamento de Físico-Química do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. Utilizando o programa Jaguar, com metodologia Hartree Fock (HF) e as palavras chave  $iacc = 1$ ,  $igeopt = 1$ ,  $maxitg = 1000$ ,  $econv = 5 \times 10^{-8}$ ,  $basis = 6-31G^{**}$ ,  $ip11 = 2$ ,  $molchg = 1$ ,  $ip151 = 0$  e  $ifreq = 1$  na seção gen, calculou-se inicialmente a energia interna e numa segunda etapa as frequências para uma série de benzenossulfonilaziridinas. A partir desses resultados determinou-se o  $pK_a$  teórico para estes compostos (Wright, 2002).

### 3.2 SÍNTESE DAS N-FENILMALEIMIDAS

As N-fenilmaleimidas foram sintetizadas, através de uma reação de acilação da anilina com o anidrido maleico. Formaram-se inicialmente os ácidos N-fenilmaleâmicos que foram tratados com anidrido acético na presença de acetato de sódio anidro, resultando nas N-fenilmaleimidas. (Esquema 8 e Tabela 3).



Esquema 8 – Rota de síntese das N-fenilmaleimidas.

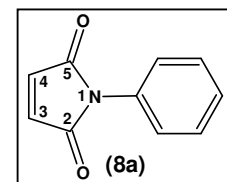


**TABELA 3 – ÁCIDOS N-FENILMALEÂMICOS E N-FENILMALEIMIDAS SINTETIZADAS**

ESTRUTURA		X
Ácido	Maleimida	
<b>33a</b>	<b>8a</b>	H
<b>33b</b>	<b>8b</b>	4-Cl
<b>33c</b>	<b>8c</b>	3,4-diCl
<b>33d</b>	<b>8d</b>	4-CH <sub>3</sub>
<b>33e</b>	<b>8e</b>	4-OCH <sub>3</sub>
<b>33f</b>	<b>8f</b>	4-Br
<b>33g</b>	<b>8g</b>	4-NO <sub>2</sub>
<b>33h</b>	<b>8h</b>	4-OH

### 3.2.1 SÍNTESE DA 1-FENIL-PIRROL-2,5-DIONA

A uma solução de 8,07 g (0,0824 mol) de anidrido maleico em 50 mL de éter etílico adicionou-se, sob agitação, 5,11 g (0,0549 mol) de anilina. O precipitado formado (ácido N-fenilmaleâmico) foi filtrado a vácuo, lavado com éter etílico e em seguida 9,450 g (0,0494 mol) deste ácido foram tratados com 60 mL de anidrido acético e 2,40 g de acetato de sódio anidro, aquecendo-se o sistema em banho-maria sob agitação durante 30 minutos. À solução resultante foi adicionada água destilada, e a mistura foi resfriada em banho de gelo. O precipitado formado foi filtrado e lavado com água e em seguida com éter de petróleo. Após secagem, o produto apresentou apenas uma mancha na CCD (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 35 : 65 %). Rendimento: 83 %. P.F. 88,8 – 89,1 °C. Literatura (Cava et al., 1973; Beilstein – Handbuch): 88 – 89 °C.



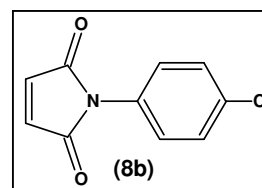
### 3.2.1.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 6,85 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 7,32 – 7,44 (m, 5H, Ar- $\text{H}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 126,77; 128,66; 129,84 e 132 ( $\text{C}$  anel aromático), 134,89 ( $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 170,21 ( $-\text{C}=\text{O}$ ).

### 3.2.2 SÍNTESE DA 1-(4'-CLOROFENIL)-PIRROL-2,5-DIONA

A uma solução de 3,87 g (0,0392 mol) de anidrido maleico em 40 mL de éter etílico adicionou-se, sob agitação, 5,00 g (0,0392 mol) de *p*-cloroanilina e procedeu-se conforme descrito na síntese da 1-fenil-pirrol-2,5-diona (**8a**). Rendimento: 88 %. P.F. 115,0 – 116,6 °C.



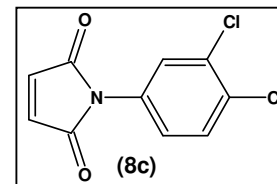
#### 3.2.2.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 6,86 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 7,29 – 7,46 (d, 4H, Ar- $\text{H}$ ,  $J = 8,5$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 127,03; 127,48; 129,25 e 129,69 ( $\text{C}$  anel aromático), 134,22 ( $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 169,08 ( $-\text{C}=\text{O}$ ).

### 3.2.3 SÍNTESE DA 1-(3',4'-DICLOROFENIL)-PIRROL-2,5-DIONA

A uma solução de 3,94 g (0,0402 mol) de anidrido maleico em 30 mL de éter etílico adicionou-se, sob agitação, 4,35 g (0,0268 mol) de 3,4-dicloroanilina e procedeu-se conforme descrito na síntese da 1-fenil-pirrol-2,5-diona (**8a**).



Rendimento: 89 %. P.F. 167,9 – 168,8 °C.

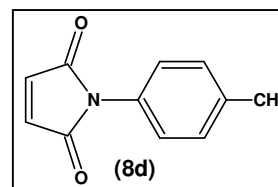
### 3.2.3.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 6,88 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 7,25 – 7,55 (m, 3H, Ar- $\text{H}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 125,54; 128,18; 131,40; 132,61 e 133,73 (C anel aromático), 135,08 ( $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 169,41 ( $-\text{C}=\text{O}$ ).

### 3.2.4 SÍNTESE DA 1-(4'-METILFENIL)-PIRROL-2,5-DIONA

A uma solução de 4,45 g (0,0454 mol) de anidrido maleico em 30 mL de éter etílico adicionou-se, sob agitação, 3,25 g (0,0302 mol) de *p*-toluidina e procedeu-se conforme descrito na síntese da 1-fenil-pirrol-2,5-diona (**8a**).  
Rendimento: 97 %. P.F. 152,0 – 152,6 °C.



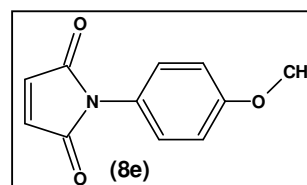
#### 3.2.4.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 2,38 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 6,83 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 7,18 – 7,29 (m, 4H, Ar- $\text{H}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,11 ( $-\text{CH}_3$ ), 125,99; 128,45; 129,76 e 138,03 (C anel aromático), 134,13 ( $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 169,65 ( $-\text{C}=\text{O}$ ).

### 3.2.5 SÍNTESE DA 1-(4'-METOXIFENIL)-PIRROL-2,5-DIONA

A uma solução de 5,57 g (0,0570 mol) de anidrido maleico em 40 mL de éter etílico adicionou-se, sob agitação, 5,00 g (0,0392 mol) de *p*-metoxianilina e



procedeu-se conforme descrito na síntese da 1-fenil-pirrol-2,5-diona (**8a**).  
Rendimento: 85 %. P.F. 151,9 – 153,7 °C. Literatura (Beilstein – Handbuch): 148,5 °C.

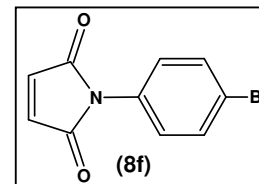
#### 3.2.5.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 3,83 (s, 3H, -O-**CH**<sub>3</sub>), 6,83 (s, 2H, -**CH=CH**-), 6,95 – 7,25 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 10$  Hz ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 55,59 (-O-**CH**<sub>3</sub>), 114,59; 123,83; 127,69 e 159,26 (**C** anel aromático), 134,24 (-H**C=CH**-) e 169,93 (**C=O**).

#### 3.2.6 SÍNTESE DA 1-(4'-BROMOFENIL)-PIRROL-2,5-DIONA

A uma solução de 2,84 g (0,0290 mol) de anidrido maleico em 40 mL de éter etílico adicionou-se, sob agitação, 5,00 g (0,0290 mol) de *p*-bromoanilina e a metodologia foi a mesma descrita para a síntese da 1-fenil-pirrol-2,5-diona (**8a**).  
Rendimento: 80 %. P.F. 129,2 – 130,1 °C.



##### 3.2.6.1 ANÁLISE ELEMENTAR CHN:

$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{BrN O}_2$  requer C 47,65 %, H 2,40 %, N 5,56 %, O 12,69 % e Br 31,70 %. Obtido: C 47,99 %, H 2,22 % e N 5,40 %.

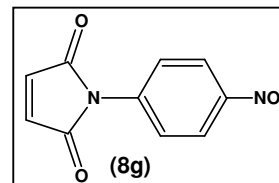
##### 3.2.6.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 6,85 (s, 2H, -**CH=CH**-) e 7,23 - 7,61 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 8,7$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 122,24; 128,01; 130,95; 132,95 (**C** anel aromático), 134,96 (-**CH=CH**-) e 169,73 (-**C=O**).

### 3.2.7 SÍNTESE DA 1-(4'-NITROFENIL)-PIRROL-2,5-DIONA

A uma solução de 5,32 g (0,0543 mol) de anidrido maleico em 40 mL de éter etílico adicionou-se, sob agitação, 5,00 g (0,0362 mol) de *p*-nitroanilina e 4 mL de clorofórmio e procedeu-se conforme descrito na síntese da 1-fenil-pirrol-2,5-diona (**8a**). Rendimento: 96 %. P.F. 167,3 – 167,5 °C.



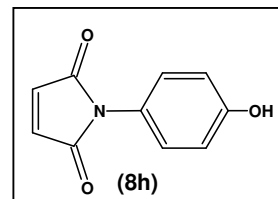
#### 3.2.7.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 6,93 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ), 7,65 – 8,35 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 8,6$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 124,43; 125,45; 137,06 e 146,14 (**C** anel aromático), 134,58 ( $-\text{HC}=\text{CH}-$ ) e 168,47 (**C**=O).

### 3.2.8 SÍNTESE DA 1-(4'-HIDROXIFENIL)-PIRROL-2,5-DIONA

A uma solução de 6,79 g (0,0687 mol) de anidrido maleico em 20 mL de éter etílico adicionou-se, sob agitação, 5,00 g (0,0458 mol) de *p*-aminofenol e procedeu-se conforme descrito na síntese da 1-fenil-pirrol-2,5-diona (**8a**). Rendimento: 82 %. P.F. 158,3 – 159,3 °C. Literatura (Salakhov et al., 1979): 145,0 °C.

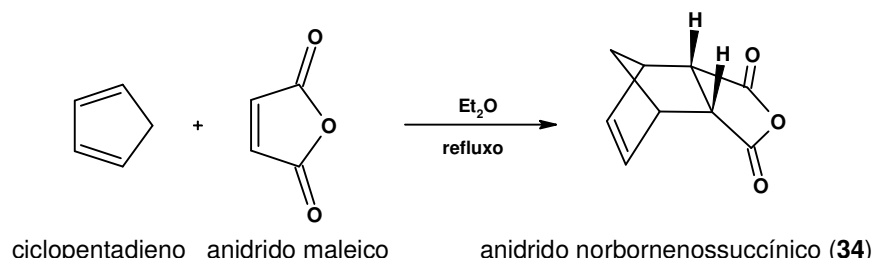


#### 3.2.8.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 2,32 (s, 1H,  $-\text{OH}$ ), 6,85 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 7,30 – 7,45 (m, 4H, Ar-**H**).

### 3.3 SÍNTESE DO ANIDRIDO NORBORNENOSSUCCÍNICO

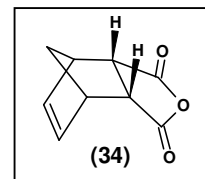
O anidrido norbornenossuccínico (4-oxa-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona) (**34**) foi sintetizado através da reação de Diels-Alder entre o ciclopentadieno e o anidrido maleico (Esquema 9).



Esquema 9 – Rota de síntese do anidrido norbornenossuccínico.

#### 3.3.1 SÍNTESE DO 4-OXA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

A uma solução de 10,0 g (0,1020 mol) de anidrido maleico em 70 mL de éter etílico (a temperatura ambiente), adicionou-se 9,5 mL (0,1530 mol) de ciclopentadieno dissolvidos em 20 mL de éter etílico. (O ciclopentadieno foi obtido pela prévia destilação do dicitlopentadieno e mantido à temperatura abaixo de  $-10^{\circ}\text{C}$ ). Após o aquecimento da mistura reacional até a temperatura ambiente, o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 1 horas e mantido somente com agitação por mais 3 h. O produto formado foi filtrado à vácuo e lavado com o próprio éter etílico. Rendimento: 91 %. P.F.  $144,4 - 145,3^{\circ}\text{C}$ . Literatura (Craig, 1951):  $165^{\circ}\text{C}$ .

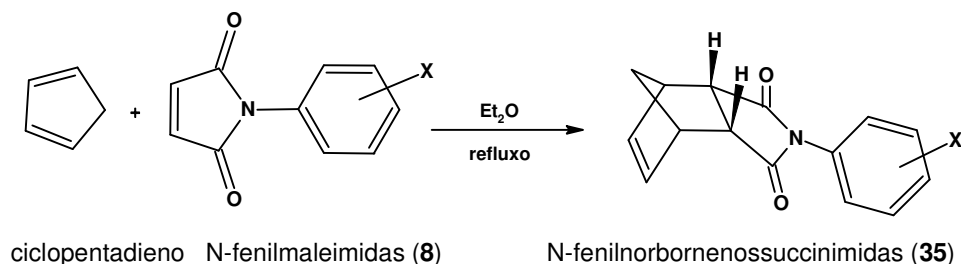


### 3.3.1.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,56 e 1,81 (2d, 2H,  $-\text{CH}_2-$  ponte  $J = 8,9$  Hz), 3,51 (d, 2H,  $-\text{CH}-$  cabeça de ponte,  $J = 1,5$  Hz), 3,61 (m, 2H,  $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ) e 6,32 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ).

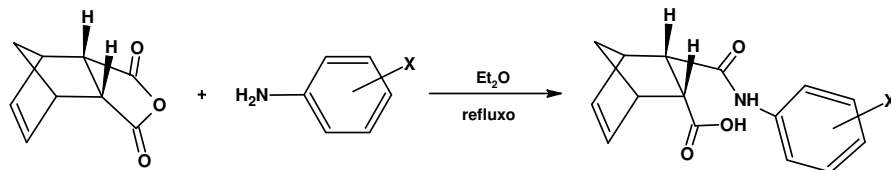
## 3.4 SÍNTESE DAS SUCCINIMIDAS

As N-fenilnorbornenossuccinimidas com substituinte  $\text{X} = \text{H}$ , 4-Cl, 3,4-diCl, 4- $\text{CH}_3$ , 4- $\text{OCH}_3$ , 4-Br e 4- $\text{NO}_2$  foram sintetizadas através da reação de Diels-Alder entre uma N-fenilmaleimida e o ciclopentadieno, conforme Esquema 10 e Tabela 4 mostrados abaixo:



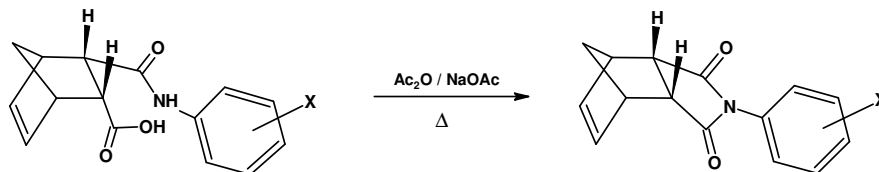
**Esquema 10 – Rota de síntese das succinimidas I.**

As N-fenilnorbornenossuccinimidas com substituinte  $\text{X} = 3$ -etil, 3- $\text{NO}_2$ , 4-F, 2,3-dimetil, 3- $\text{OCH}_3$  e 4- $\text{COOH}$  foram sintetizadas, através de uma reação de acilação da anilina com o anidrido norbornenossuccínico (**34**) (4-oxatriciclo[5.2.1.0<sup>2,6</sup>-endo]dec-8-eno-3,5-diona). Formaram-se inicialmente os ácidos N-fenilnorbornenossuccínicos (Tabela 5) que foram tratados com anidrido acético na presença de acetato de sódio anidro, resultando nas N-fenilnorbornenossuccinimidas conforme Esquema 11 e Tabela 4 mostrados abaixo:



anidrido norbornenosuccínico (34) anilinas (32)

ácidos N-fenilnorbornenosuccínicos (36)



Ácidos N-fenilnorbornenosuccínicos (36)

N-fenilnorbornenosuccinimidas (35)

**Esquema 11 – Rota de síntese das succinimidas II.****TABELA 4 – SUCCINIMIDAS SINTETIZADAS**

ESTRUTURA	X
35a	H
35b	4-Cl
35c	3,4-diCl
35d	4-CH <sub>3</sub>
35e	4-OCH <sub>3</sub>
35f	4-Br
35g	4-NO <sub>2</sub>
35h	4-OH
35i	3-etil
35j	3- NO <sub>2</sub>
35l	4-F
35m	2,3-dimetil
35n	3-OCH <sub>3</sub>
35o	4-COOH

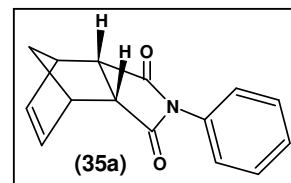


**TABELA 5 – ÁCIDOS SUCCÍNICOS SINTETIZADOS**

ESTRUTURA	X
<b>36i</b>	3-etil
<b>36j</b>	3- NO <sub>2</sub>
<b>36l</b>	4-F
<b>36m</b>	2,3-dimetil
<b>36n</b>	3-OCH <sub>3</sub>
<b>36o</b>	4-COOH

### 3.4.1 SÍNTESE DA 4-FENIL-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

A uma solução de 6,27 g (0,0362 mol) de 1-fenil-pirrol-2,5-diona (**8a**) em 20 mL de éter etílico (a temperatura ambiente), adicionou-se 2,25 mL (0,0362 mol) de ciclopentadieno dissolvido em 7,00 mL de éter etílico, mantido à temperatura abaixo de  $-10^{\circ}\text{C}$ . (O ciclopentadieno foi obtido pela prévia destilação do dicitopentadieno e mantido a baixas temperaturas). Após aquecer até a temperatura ambiente, o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 2 horas. O produto formado foi filtrado a vácuo e lavado com o próprio éter etílico. Depois da devida secagem o composto apresentou apenas uma mancha na CCD (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 35 : 65 %). Rendimento: 71 %. P.F. 143,9 – 144,9  $^{\circ}\text{C}$ .



#### 3.4.1.1 ANÁLISE ELEMENTAR CHN:

C<sub>15</sub> H<sub>13</sub> N O<sub>2</sub> requer C 75,29 %, H 5,49 %, N 5,86 % e O 13,36 %.

Obtido: C 74,94 %, H 4,96 % e N 5,95 %.

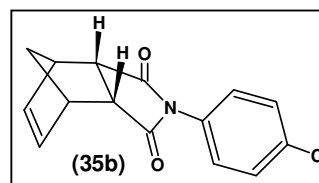
### 3.4.1.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,63 e 1,77 (2d, 2H,  $-\text{CH}_2-$  ponte,  $J = 8,8$  Hz), 3,43 – 3,45 (2d, 4H,  $-\text{CH}-$  cabeça de ponte e  $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ,  $J = 1,5$  Hz), 6,27 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 7,12 - 7,44 (m, 5H, Ar- $\text{H}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 45,42 e 45,71 ( $-\text{CH}-$  e  $-\text{CH}_2-$ ), 52,16 ( $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ), 126,58; 128,50; 128,99 e 131,78 ( $\text{C}$  anel aromático), 134,53 ( $\text{HC}=\text{CH}-$ ) e 176,74 ( $-\text{C}=\text{O}$ ).

### 3.4.2 SÍNTESE DA 4-(4'-CLOROFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

Procedeu-se conforme descrito para a síntese da 4-fenil-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35a**) utilizando-se 0,900 mL (0,0145 mol) de ciclopentadieno e 3,00 g (0,0145 mol) de 1-(4'-clorofenil)-pirrol-2,5-diona (**8b**).  
 Rendimento: 75 %. P.F. 141,4 – 142,9 °C.



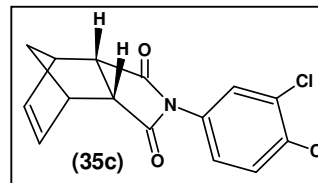
#### 3.4.2.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,60 e 1,79 (2d, 2H,  $-\text{CH}_2-$  ponte,  $J = 7,2$  Hz), 3,43 - 3,50 (m, 4H,  $-\text{CH}-$  cabeça de ponte e  $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ), 6,24 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 7,07 – 7,43 (m, 4H, Ar- $\text{H}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 45,44 e 45,72 ( $-\text{CH}-$  e  $-\text{CH}_2-$ ), 52,21 ( $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ), 127,49; 127,79; 129,40 e 134,55 ( $\text{C}$  anel aromático), 134,25 ( $\text{HC}=\text{CH}-$ ) e 176,46 ( $-\text{C}=\text{O}$ ).

### 3.4.3 SÍNTESE DA 4-(3',4'-DICLOROFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

Procedeu-se conforme descrito para a síntese da 4-fenil-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35a**) utilizando-se 1,2 mL (0,019 mol) de



ciclopentadieno e 4,50 g (0,0186 mol) de 1-(3',4'-diclorofenil)-pirrol-2,5-diona (**8c**).

Rendimento: 67 %. P.F. 163,8 – 164,6 °C.

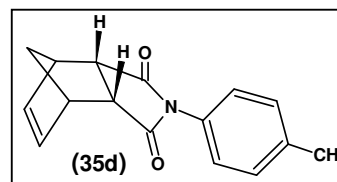
#### 3.4.3.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, TMS) δ: 1,60 e 1,78 (2d, 2H, -CH<sub>2</sub>- ponte, *J* = 6,5 Hz), 3,45 e 3,50 (s, 4H, -CH- cabeça de ponte e -CH-C=O), 6,25 (s, 2H, -CH=CH-) e 7,06 – 7,51 (d, 3H, Ar-H, *J* = 8,5 Hz).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, TMS) δ: 46,30 e 46,54 (-CH- e -CH<sub>2</sub>-), 53,04 (-CH-C=O), 126,58; 129,18; 131,37; 131,73; 133,44 e 133,66 (C anel aromático), 135,38 (-HC=CH-) e 176,88 (-C=O).

### 3.4.4 SÍNTESE DA 4-(4'-METILFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

Procedeu-se conforme descrito para a síntese da 4-fenil-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35a**) utilizando-se 1,4 mL (0,0230 mol)



de ciclopentadieno e 4,15 g (0,0222 mol) de 1-(4'-metilfenil)-pirrol-2,5-diona (**8d**).

Rendimento: 73 %. P.F. 158,2 – 158,6 °C. Literatura (Morgan et al., 1944; Konovalov et al., 1967; Salakhov et al., 1979) 157 – 158 °C.

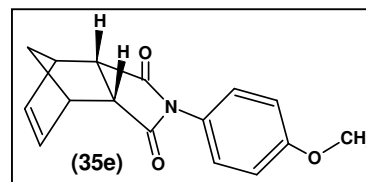
### 3.4.4.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,60 e 1,78 (2d, 2H,  $-\text{CH}_2-$  ponte,  $J = 9,0$  Hz), 2,35 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 3,41 e 3,49 (s, 4H,  $-\text{CH}-$  cabeça de ponte e  $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ), 6,25 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 7,00 e 7,22 (2d, 4H, Ar- $\text{H}$ ,  $J = 8,1$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,21 ( $-\text{CH}_3$ ), 45,47 e 45,77 ( $-\text{CH}-$  e  $-\text{CH}_2-$ ), 52,22 ( $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ), 126,47; 129,20; 129,75 e 138,67 ( $\text{C}$  anel aromático), 134,59 ( $-\text{HC}=\text{CH}-$ ) e 177,00 ( $-\text{C}=\text{O}$ ).

### 3.4.5 SÍNTESE DA 4-(4'-METOXIFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

Procedeu-se conforme descrito para a síntese da 4-fenil-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35a**) utilizando-se 1,55 mL (0,0249



mol) de ciclopentadieno e 5,00 g (0,0246 mol) de 1-(4'-metoxifenil)-pirrol-2,5-diona (**8e**). Rendimento: 76 %. P.F. 171,6 – 173,0 °C. Literatura (Konovalov et al., 1967; Salakhov et al., 1979) 169 – 170 °C.

#### 3.4.5.1 ANÁLISE ELEMENTAR CHN:

$\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}\text{O}_3$  requer C 71,36 %, H 5,63 %, N 5,20 % e O 17,81 %.

Obtido: C 71,23 %, H 5,72 % e N 5,11 %.

#### 3.4.5.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

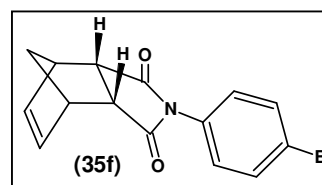
RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,63 e 1,80 (2d, 2H,  $-\text{CH}_2-$  ponte,  $J = 8,0$  Hz), 3,41 e 3,49 (2d, 4H,  $-\text{CH}-$  cabeça de ponte e  $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ,  $J = 1,5$  Hz),

3,80 (s, 3H, -O-**CH**<sub>3</sub>), 6,26 (d, 2H, -**CH=CH**-,  $J = 1,5$  Hz) e 6,91 - 7,27 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 8,9$  Hz).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 45,34 e 45,61 (-**CH**- e -**CH**<sub>2</sub>-), 52,12 (-**CH**-C=O), 55,37 (-O-**CH**<sub>3</sub>), 114,32; 124,39; 127,76 e 159,38 (**C** anel aromático), 134,48 (-H**C=CH**-) e 177,04 (-**C=O**).

#### 3.4.6 SÍNTESE DA 4-(4'-BROMOFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

Procedeu-se conforme descrito para a síntese da 4-fenil-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35a**) utilizando-se 0,900 mL (0,0145 mol) de ciclopentadieno e 3,40 g (0,0135 mol) de 1-(4'-bromofenil)-pirrol-2,5-diona (**8f**). Rendimento: 69 %. P.F. 149,4 – 151,6 °C.



##### 3.4.6.1 ANÁLISE ELEMENTAR CHN:

C<sub>15</sub> H<sub>12</sub> Br N O<sub>2</sub> requer C 56,62 %, H 3,87 %, N 4,40 % e O 10,05 % e Br 25,12 %. Obtido: C 57,23 %, H 3,30 % e N 4,26 %.

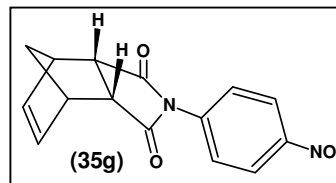
##### 3.4.6.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,60 e 1,77 (2d, 2H, -**CH**<sub>2</sub>- ponte,  $J = 7,5$  Hz), 3,41 – 3,52 (m, 4H, -**CH**- cabeça de ponte e -**CH**-C=O), 6,25 (m, 2H, -**CH=CH**-) e 7,02 - 7,57 (dd, 4H, Ar-**H**,  $J = 6,7$  e 2,1 Hz).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 45,48 e 45,76 (-**CH**- e -**CH**<sub>2</sub>-), 52,25 (-**CH**-C=O), 122,33; 127,83; 128,13 e 132,19 (**C** anel aromático), 134,58 (-H**C=CH**-) e 176,42 (-**C=O**).

### 3.4.7 SÍNTESE DA 4-(4'-NITROFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

Procedeu-se conforme descrito para a síntese da 4-fenil-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35a**) utilizando-se 1,20 mL (0,0193 mol) de ciclopentadieno e 4,00 g (0,0183 mol) de 1-(4'-nitrofenil)-pirrol-2,5-diona (**8g**). Rendimento: 60 %. P.F. 184,9 – 185,2 °C. Literatura (Konovalov et al., 1967; Salakhov et al., 1979): 190 – 191 °C).



#### 3.4.7.1 ANÁLISE ELEMENTAR CHN:

C<sub>15</sub> H<sub>12</sub> N<sub>2</sub> O<sub>4</sub> requer C 63,38 %, H 4,26 %, N 9,86 % e O 22,50 %.  
Obtido: C 63,28 %, H 4,91 % e N 9,43 %.

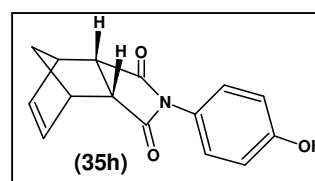
#### 3.4.7.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, TMS) δ: 1,66 e 1,80 (2d, 2H, -CH<sub>2</sub>- ponte, *J* = 8,0 Hz), 3,50 e 3,52 (s, 4H, -CH- cabeça de ponte e -CH-C=O), 6,27 (s, 2H, -CH=CH-) e 7,40 – 8,31 (d, 4H, Ar-H, *J* = 8,9 Hz).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, TMS) δ: 45,64 e 45,88 (-CH- e -CH<sub>2</sub>-), 52,34 (-CH-C=O), 124,24; 127,04; 137,24 e 146,85 (C anel aromático), 134,67 (-HC=CH-) e 175,94 (-C=O).

### 3.4.8 SÍNTESE DA 4-(4'-HIDROXIFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

Procedeu-se conforme descrito para a síntese da 4-fenil-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-



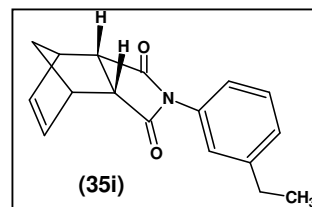
3,5-diona (**35a**) utilizando-se 1,80 mL (0,0210 mol) de ciclopentadieno e 2,78 g (0,0210 mol) de 1-(4'-hidróxifenil)-pirrol-2,5-diona (**8h**). Rendimento: 98 %. P.F. 187,9 – 188,8 °C. Literatura (Salakhov et al., 1979): 186 °C.

#### 3.4.8.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,62 e 1,76 (2m, 2H,  $-\text{CH}_2-$  ponte), 2,29 (s, 1H,  $-\text{OH}$ ), 3,42 e 3,49 (s, 4H,  $-\text{CH}-$  cabeça de ponte e  $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ), 6,24 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 7,10 – 7,51 (m, 4H, Ar- $\text{H}$ ).

#### 3.4.9 SÍNTESE DA 4-(3'-ETILFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

A uma solução de 1,53 g (0,0093 mol) de 4-oxa-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**34**) em 70 mL de éter etílico adicionou-se 1,13 g (0,0093 mol) de 3-etilanilina e o sistema foi submetido a um refluxo por 4 h. Retirou-se o solvente em um evaporador rotatório e o precipitado formado, o ácido N-3-etilfenilnorbornenossuccínico (**36i**) (P.F. 91,5 – 91,7 °C R: 62 %) foi filtrado e lavado com uma mistura de éter de petróleo e éter etílico (70 / 30 %). Em seguida 1,50 g (0,0053 mol) deste ácido foi tratado com 50 mL de anidrido acético e 0,30 g de acetato de sódio anidro, aquecendo-se o sistema em banho-maria sob agitação durante 2 h. À solução resultante foi adicionada água destilada, e a mistura foi resfriada em banho de gelo. O precipitado formado foi filtrado e lavado com água e em seguida com éter de petróleo. Após secagem, o produto apresentou apenas uma mancha na CCD (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 30 / 70 %). Rendimento: 90 %. P.F. 108,5 – 108,8 °C.

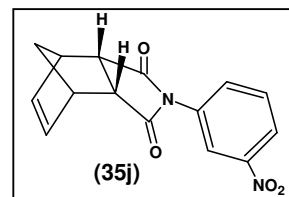


### 3.4.9.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,20 (s alargado, 3H,  $-\text{CH}_3\text{-CH}_2-$ ), 1,63 e 1,71 (s, 2H,  $-\text{CH}_2-$  ponte), 2,63 (s alargado, 2H,  $-\text{CH}_3\text{-CH}_2-$ ), 3,39 (s alargado, 4H,  $-\text{CH}-$  cabeça de ponte e  $-\text{CH-C=O}$ ), 6,21 (s, 2H,  $-\text{CH=CH-}$ ) e 6,90 - 7,17 (m, 4H, Ar-**H**).

### 3.4.10 SÍNTESE DA 4-(3'-NITROFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

A uma solução de 1,02 g (0,0062 mol) de 4-oxa-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**34**) em 70 mL de clorofórmio adicionou-se 0,78 g (0,0056 mol) de 3-nitroanilina e o sistema foi submetido a um refluxo por 8 h. Através de procedimento semelhante ao descrito para a síntese anterior, obteve-se inicialmente o ácido N-3-nitrofenilnorborenossuccínico (**36j**) (P.F. 147,6 – 147,9 °C R: 60 %) e em seguida a norbornenossuccinimida com rendimento de 90 % e P.F. 177,8 – 178,4 °C. Literatura (Konovalov et al., 1967) 174 – 175 °C.



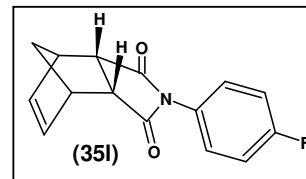
#### 3.4.10.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,62 e 1,76 (2s alargados, 2H,  $-\text{CH}_2-$  ponte), 3,47 (s alargado, 4H,  $-\text{CH}-$  cabeça de ponte e  $-\text{CH-C=O}$ ), 6,25 (s, 2H,  $-\text{CH=CH-}$ ) e 7,53 – 8,17 (m, 4H, Ar-**H**).



### 3.4.11 SÍNTESE DA 4-(4'-FLUORFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

A uma solução de 5,20 g (0,0317 mol) de 4-oxa-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**34**) em 30 mL de éter etílico adicionou-se 3,00 mL (0,0317 mol)



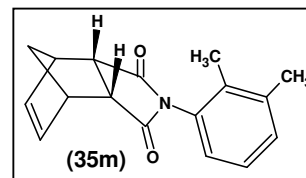
de 4-fluoranilina em 30 mL de éter etílico e o sistema foi submetido a um refluxo por 30 minutos. Através de procedimento semelhante ao descrito para a síntese anterior, obteve-se inicialmente o ácido N-4-fluorfenilnorbornenossuccínico (**36l**) (P.F. 141,6 – 142,5 °C R: 90 %) e em seguida a norbornenossuccinimida (esta ainda não descrita na literatura) com rendimento de 97 % e P.F. 180,2 – 180,8 °C.

#### 3.4.11.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, TMS) δ: 1,61 (d, 1H, -CH<sub>2</sub>- ponte, *J* = 8,40 Hz), 1,79 (d, 1H, -CH<sub>2</sub>- ponte, *J* = 8,40 Hz), 3,43 (s 2H, -CH- cabeça de ponte), 3,50 (s, 2H, -CH-C=O), 6,25 (s, 2H, -CH=CH-) e 7,09 – 7,12 (m, 4H, Ar-H).

### 3.4.12 SÍNTESE DA 4-(2',3'-DIMETILFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

A uma solução de 3,70 g (0,0225 mol) de 4-oxa-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**34**) em 20 mL de éter etílico adicionou-se 2,75 mL (0,0225 mol)



de 2,3-dimetilanilina em 20 mL de éter etílico e o sistema foi submetido a um refluxo por 40 minutos. Através de procedimento semelhante ao descrito para a síntese anterior, obteve-se inicialmente o ácido N-2,3-dimetilfenilnorborne-

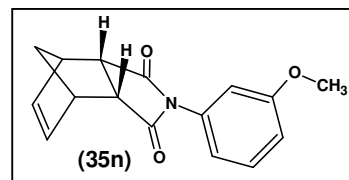
nossuccínico (**36m**) (P.F. 135,6 – 136,7 °C R: 87 %) e em seguida a norbornenossuccinimida com rendimento de 79 % e P.F. 188,3 – 188,7 °C.

### 3.4.12.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,63 e 1,79 (2d, 2H,  $-\text{CH}_2-$  ponte,  $J = 7,7$  Hz), 1,99 (s, 3H, m- $\text{CH}_3\text{Ph}$ ), 2,29 (s, 3H, o- $\text{CH}_3\text{Ph}$ ), 3,46 – 3,50 (m 4H,  $-\text{CH}-$  cabeça de ponte e  $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ), 6,30 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 6,69 - 7,17 (m, 3H, Ar- $\text{H}$ ).

### 3.4.13 SÍNTESE DA 4-(3'METOXIFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

A uma solução de 6,08 g (0,0370 mol) de 4-oxa-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**34**) em 60 mL de éter etílico adicionou-se 5,70 g



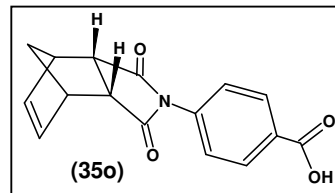
(0,0463 mol) de 3-metoxianilina em 40 mL de éter etílico e o sistema foi submetido a um refluxo por 2 horas. Através de procedimento semelhante ao descrito para a síntese anterior, obteve-se inicialmente o ácido N-3-metoxifenilnorbornenossuccínico (**36n**) (P.F. 135,3 – 136,2 °C R: 72 %) e em seguida a norbornenossuccinimida com rendimento de 60 % e P.F. 101,5 – 102,0 °C. Literatura (Salakhov et al., 1979) 98 °C.

### 3.4.13.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,63 e 1,77 (2d, 2H,  $-\text{CH}_2-$  ponte,  $J = 9,0$  Hz), 3,43 e 3,51 (s, 4H,  $-\text{CH}-$  cabeça de ponte e  $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ), 3,80 (s, 3H, m-O- $\text{CH}_3$ ), 6,26 (s, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) e 6,66 - 7,33 (m, 4H, Ar- $\text{H}$ ).

### 3.4.14 SÍNTESE DA 4-(4'-CARBOXIFENIL)-4-AZA-TRICICLO[5.2.1.0<sup>2,6-ENDO</sup>]DEC-8-ENO-3,5-DIONA

A uma solução de 3,60 g (0,0220 mol) de 4-oxa-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona **(34)** em 25 mL de éter etílico adicionou-se 3,00 g (0,0220 mol) de 4-carboxianilina em 25 mL de éter etílico e o sistema foi submetido a um refluxo durante uma hora. Através de procedimento semelhante ao descrito para a síntese anterior, obteve-se inicialmente o ácido N-4-carboxifenilnorbornenossuccínico **(36o)** (P.F. 226,8 – 227,4 °C R: 91 %) e em seguida a succinimida com rendimento de 83 %. P.F. 233,8 – 234,7 °C.

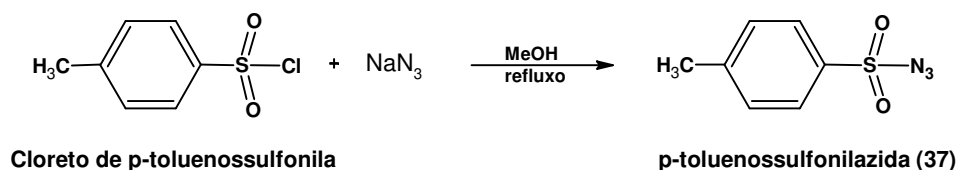


#### 3.4.14.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, TMS) δ: 1,63 e 1,81 (2d, 2H, -CH<sub>2</sub>- ponte, *J* = 8,5 Hz), 3,47 – 3,53 (m, 4H, -CH- cabeça de ponte e -CH-C=O), 6,28 (s, 2H, -CH=CH-) e 7,31 e 8,16 (2d, 4H, Ar-H, *J* = 8,0 Hz).

### 3.5 SÍNTESE DA p-TOLUENOSSULFONILAZIDA

A p-toluenossulfonilazida foi preparada a partir do cloreto de p-toluenossulfonila e azoteto de sódio.



Esquema 12 – Rota de síntese da p-toluenossulfonilazida.

A uma solução de 4,80 g (0,0303 mol) de cloreto de *p*-toluenosulfonila em 20 mL de metanol adicionou-se 4,00 g (0,0615 mol) de azida de sódio e o sistema foi submetido a um refluxo durante 3 horas. Após resfriamento à temperatura ambiente, adicionou-se 40 mL de água e extraiu-se o composto com 4 porções de 25 mL de clorofórmio. Retirou-se então o solvente em um evaporador rotatório obtendo-se o composto puro (líquido oleoso à temperatura ambiente). Rendimento: 90 %.

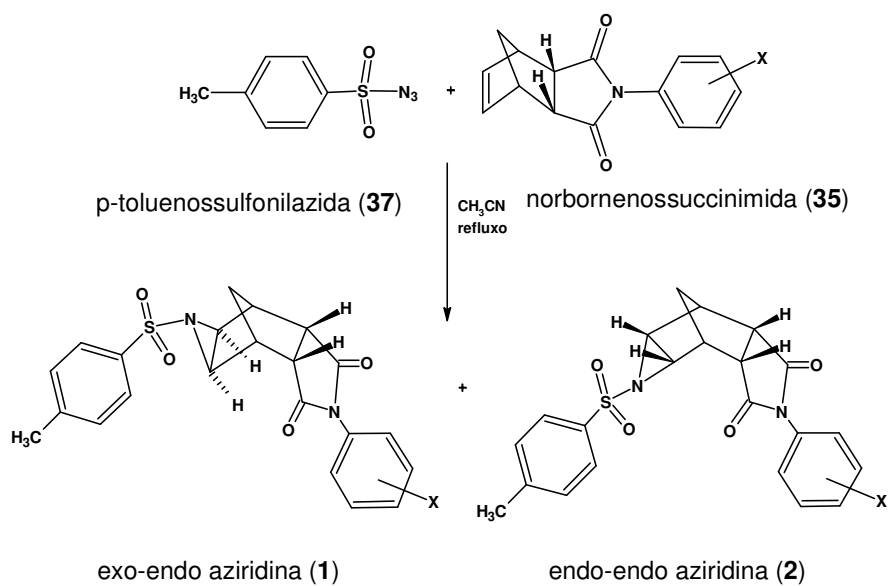
#### 3.5.1.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 2,48 (s, 3H,  $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ) e 7,38-7,85 (d, 4H, Ar- $\text{H}$ ,  $J = 8,2$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 22,22 ( $-\text{CH}_3\text{-}$ ) e 128.01, 130.84, 135.97 e 146.86 ( $\text{C}$  anel aromático).

### 3.6 SÍNTESE DAS BENZENOSSULFONILAZIRIDINAS

Foram sintetizadas 28 novas aziridinas em seus 14 pares de estereoisômeros através de uma reação do tipo 1,3-dipolar entre a *p*-toluenossulfonilazida e uma norbornenossuccinimida, conforme Esquema 13 e Tabela 6 mostrados abaixo:

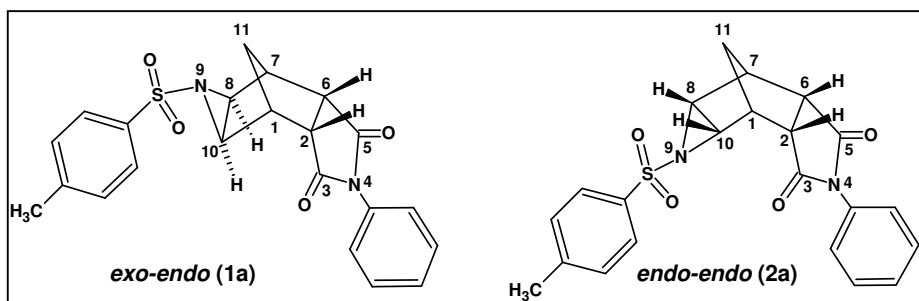


**Esquema 13 – Rota de síntese das aziridinas.**

**TABELA 6 – AZIRIDINAS SINTETIZADAS**

SUBSTITUINTE	ESTRUTURA	
X	<i>exo-endo</i>	<i>endo-endo</i>
H	<b>1a</b>	<b>2a</b>
4-Cl	<b>1b</b>	<b>2b</b>
3,4-diCl	<b>1c</b>	<b>2c</b>
4-CH <sub>3</sub>	<b>1d</b>	<b>2d</b>
4-OCH <sub>3</sub>	<b>1e</b>	<b>2e</b>
4-Br	<b>1f</b>	<b>2f</b>
4-NO <sub>2</sub>	<b>1g</b>	<b>2g</b>
4-OH	<b>1h</b>	<b>2h</b>
3-etil	<b>1i</b>	<b>2i</b>
3- NO <sub>2</sub>	<b>1j</b>	<b>2j</b>
4-F	<b>1l</b>	<b>2l</b>
2,3-dimetil	<b>1m</b>	<b>2m</b>
3- OCH <sub>3</sub>	<b>1n</b>	<b>2n</b>
4-COOH	<b>1o</b>	<b>2o</b>

### 3.6.1 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL)-4-FENIL-4,9-DIAZATETRACICLO[5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA



A uma solução de 4,14 g (0,0210 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 20 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 4,00 g (0,0167 mol) de 4-fenil-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35a**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 15 horas. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila / acetona / hexano 30 : 15 : 55 %) até que ocorresse a formação dos dois produtos. O estereoisômero *endo-endo* precipitou no meio reacional e foi filtrado e lavado com clorofórmio. A mistura restante foi separada da *p*-toluenossulfonilazida, através de uma recristalização com clorofórmio e metanol. Posteriormente o estereoisômero *exo-endo* foi separado através de uma coluna cromatográfica (eluente: acetato de etila / acetona / hexano 30 : 15 : 55 %). Rendimento bruto de 90 % com P.F. 250,1 – 251,3 °C para o estereoisômero *exo-endo* e P.F. 253,0 – 254,9 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

#### 3.6.1.1 ANÁLISE ELEMENTAR CHN:

C<sub>22</sub> H<sub>20</sub> N<sub>2</sub> O<sub>4</sub> S requer C 64,69%, H 4,94%, N 6,86%, O 15,66 %, e S 7,85 %. Obtido: C 63,85%, H 4,98% e N 6,72% para o composto *exo-endo* e C 64,59%, H 4,97% e N 6,92% para o composto *endo-endo*.

### 3.6.1.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

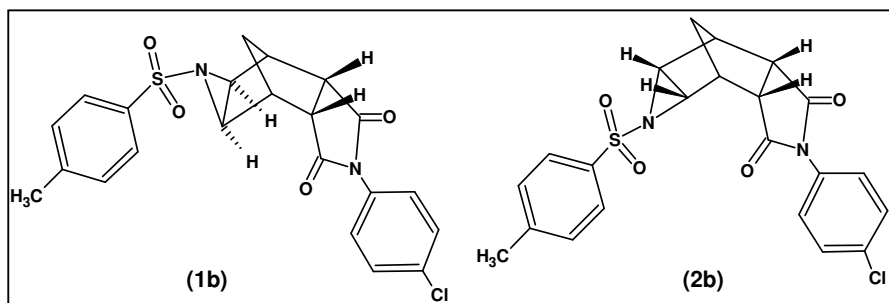
Composto *exo-endo* (**1a**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,22 e 1,85 (2d, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ,  $J = 10,5$  Hz), 2,46 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ -Ph), 3,06 (s, 2H,  $-\text{CH-N-}$ ), 3,12 (s, 2H,  $-\text{CH-}$ ), 3,32 (m, 2H,  $-\text{CH-C=O}$ ) e 7,15 - 7,80 (m, 9H, Ar-**H**).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 22,39 ( $-\text{CH}_3$ -Ph), 32,31 ( $-\text{CH}_2-$ ), 38,05 ( $-\text{CH-}$ ), 39,49 ( $-\text{CH-N-}$ ), 47,89 ( $-\text{CH-C=O}$ ), 127,41; 128,73; 129,84; 130,13; 130,54; 135,06 e 145,62 (**C** anéis aromáticos) e 175,98 ( $-\text{C=O}$ ).

Composto *endo-endo* (**2a**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 2,01 e 2,41 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,32 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ -Ph), 3,11 (s, 2H,  $-\text{CH-}$ ), 3,24 (t, 2H,  $-\text{CH-N-}$ ,  $J = 2,5$  Hz), 3,59 (t, 2H,  $-\text{CH-C=O}$ ,  $J = 2,0$  Hz) e 7,00 - 7,56 (m, 9H, Ar-**H**).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 22,30 ( $-\text{CH}_3$ -Ph), 40,74 ( $-\text{CH}_2-$ ), 48,76 ( $-\text{CH-}$ ), 50,36 ( $-\text{CH-N-}$ ), 55,98 ( $-\text{CH-C=O}$ ), 126,70; 127,68; 128,04; 128,34; 129,14; 129,35; 129,88 e 130,09 (**C** anéis aromáticos) e 175,76 ( $-\text{C=O}$ ).

### 3.6.2 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL)-4-(4''-CLOROFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO[5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA



A uma solução de 2,92 g (0,0148 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 25 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 2,0 g (0,00731 mol) de

4-(4'-clorofenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35b**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 18 horas. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 60 : 40 %) até que o reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. Adicionou-se então éter de petróleo e o precipitado formado foi filtrado, à vácuo, e lavado com acetato de etila. Neste procedimento, uma fração do composto *endo-endo* foi separada. Da solução restante, evaporou-se o solvente em um evaporador rotatório e o sólido foi tratado com éter etílico e da mesma forma que o anterior o composto *exo-endo*, pouco solúvel neste solvente, foi separado. Rendimento bruto de 70 % com P.F. 230,3 – 231,8 °C para o estereoisômero *exo-endo* e P.F. 249,7 – 251,3 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

### 3.6.2.1 ANÁLISE ELEMENTAR CHN:

C<sub>22</sub> H<sub>19</sub> Cl N<sub>2</sub> O<sub>4</sub> S requer C 59,66 %, H 4,33 %, N 6,33 %, O 14,44 %, S 7,24 % e Cl 8,00 %. Obtido: C 59,76 %, H 4,40 % e N 6,05 % para o composto *exo-endo* e C 59,88 %, H 4,72 % e N 6,16 % para o composto *endo-endo*.

### 3.6.2.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

Composto *exo-endo* (**1b**) - RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, TMS) δ: 1,19 e 1,86 (2d, 2H, -CH<sub>2</sub>-, *J* = 10,6 Hz), 2,46 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>-Ph), 3,03 (s, 2H, -CH-N-), 3,11 (s, 2H, -CH-), 3,31 (m, 2H, -CH-C=O); 7,11 e 7,46 (d, 4H, Ar-H, *J* = 8,6) e 7,35 e 7,77 (d, 4H, Ar-H, *J* = 8,2 Hz).

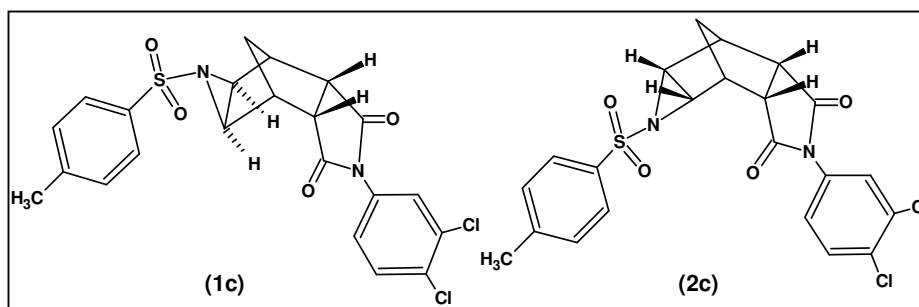


RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,64 ( $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 31,51 ( $-\text{CH}_2-$ ), 37,25 ( $-\text{CH}-$ ), 38,75 ( $-\text{CH-N-}$ ), 47,12 ( $-\text{CH-C=O}$ ), 127,93; 129,58; 129,81; 134,28; 134,92 e 144,95 ( $\text{C}$  anéis aromáticos) e 174,99 ( $-\text{C=O}$ ).

Composto *endo-endo* (**2b**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,93 e 2,32 (2d, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ,  $J = 10,0$  Hz), 2,34 (s, 3H,  $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 3,10 (s, 2H,  $-\text{CH}-$ ), 3,22 (m, 2H,  $-\text{CH-N-}$ ), 3,56 (s, 2H,  $-\text{CH-C=O}$ ) e 7,04 – 7,54 (m, 8H, Ar-**H**).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,58 ( $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 40,03 ( $-\text{CH}_2-$ ), 47,98 ( $-\text{CH}-$ ), 49,63 ( $-\text{CH-N-}$ ), 55,17 ( $-\text{CH-C=O}$ ), 127,22; 128,26; 128,72; 129,43; 131,10; 132,52; 133,12 e 145,08 ( $\text{C}$  anéis aromáticos) e 174,86 ( $-\text{C=O}$ ).

### 3.6.3 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL)-4-(3'',4''-DICLOROFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO[5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO -3,5-DIONA



A uma solução de 2,0 g (0,0101 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 25 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 2,50 g (0,00811 mol) de 4-(3',4'-diclorofenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35c**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 18 horas. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 65 : 35 %) até que o reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. Adicionou-se éter de petróleo

e o precipitado formado foi filtrado, à vácuo, e lavado com acetato de etila. Uma fração do composto *endo-endo* puro, foi separada, lavando-se o precipitado com uma mistura de diclorometano e éter de petróleo. O composto *exo-endo* foi separado através de uma coluna cromatográfica (eluente: diclorometano / éter de petróleo 20 : 80 %). Rendimento bruto de 72 % com P.F. 203,5 – 204,9 °C para o estereoisômero *exo-endo* e P.F. 206,9 – 207,5 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

### 3.6.3.1 ANÁLISE ELEMENTAR CHN:

$C_{22}H_{18}Cl_2N_2O_4S$  requer C 55,35 %, H 3,81 %, N 5,87 %, O 13,40 %, S 6,72 % e Cl 14,85 %. Obtido: C 55,05 %, H 3,77 % e N 6,02 % para o composto *endo-endo*.

### 3.6.3.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

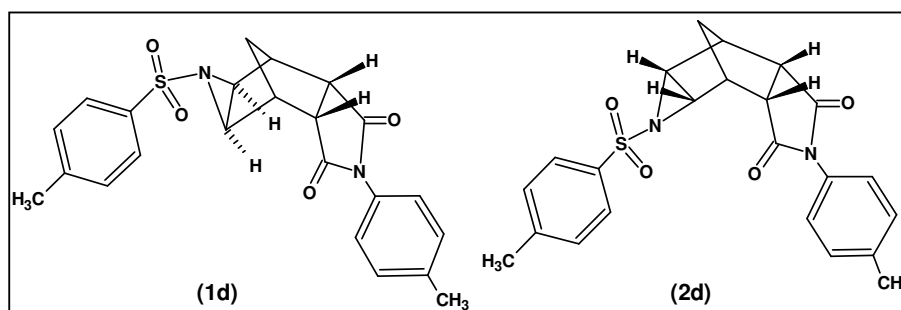
Composto *exo-endo* (**1c**) - RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,22 e 1,83 (m, 2H,  $-CH_2-$ ), 2,45 (s, 3H,  $-CH_3-Ph$ ), 3,01 (s, 2H,  $-CH-N-$ ), 3,11 (s, 2H,  $-CH-$ ), 3,31 (m, 2H,  $-CH-C=O$ ) e 7,04 – 7,79 (m, 7H, Ar-**H**).

RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,95 ( $-CH_3-Ph$ ), 32,30 ( $-CH_2-$ ), 38,08 ( $-CH-$ ), 39,47 ( $-CH-N-$ ), 47,87 ( $-CH-C=O$ ), 127,19; 128,72; 130,53; 130,79; 135,09 e 139,99 (**C** anéis aromáticos) e 176,12 ( $-C=O$ ).

Composto *endo-endo* (**2c**) - RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,97 e 2,35 (m, 2H,  $-CH_2-$ ), 2,35 (s, 3H,  $-CH_3-Ph$ ), 3,13 (s, 2H,  $-CH-$ ), 3,24 (s, 2H,  $-CH-N-$ ), 3,60 (m, 2H,  $-CH-C=O$ ) e 7,08 – 7,65 (m, 7H, Ar-**H**).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,60 ( $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 40,16 ( $-\text{CH}_2-$ ), 47,98 ( $-\text{CH}-$ ), 49,67 ( $-\text{CH-N-}$ ), 55,13 ( $-\text{CH-C=O}$ ), 125,11; 127,60; 128,05; 129,46; 130,13; 131,36; 131,89; 132,66 e 145,14 ( $\text{C}$  anéis aromáticos) e 174,59 ( $-\text{C=O}$ ).

### 3.6.4 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL)-4-(4''-METILFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO[5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA



A uma solução de 4,32 g (0,0219 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 40 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 3,70 g (0,0146 mol) de 4-(4'-metilfenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35d**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 20 horas. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 65 : 35 %) até que o reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. Adicionou-se éter de petróleo e o precipitado formado foi filtrado, a vácuo, e lavado com acetato de etila. Uma fração do composto *exo-endo* puro, foi separada, lavando-se o precipitado com uma mistura de diclorometano e éter de petróleo. O composto *endo-endo* foi separado através de uma coluna cromatográfica (eluente: diclorometano / acetato de etila 10 : 90 %). Rendimento bruto de 74 % com P.F. 230,7 – 231,2 °C para o estereoisômero *exo-endo* e P.F. 244,9 – 246,4 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

### 3.6.4.1 ANÁLISE ELEMENTAR CHN:

$C_{23}H_{22}N_2O_4S$  requer C 65,37 %, H 5,26 %, N 6,63 %, O 15,15 % e S 7,59 %. Obtido: C 64,79 %, H 5,17 % e N 6,69 % para o composto *exo-endo* e C 64,80 %, H 5,19 % e N 6,70 % para o composto *endo-endo*.

### 3.6.4.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

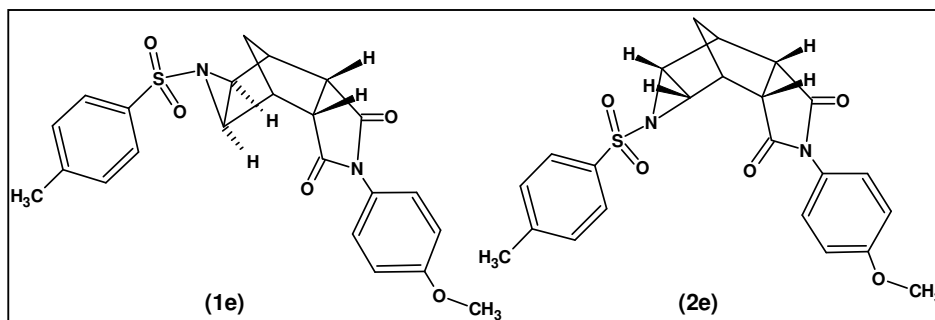
Composto *exo-endo* (**1d**) - RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,20 e 1,82 (2d, 2H,  $-CH_2-$ ,  $J = 10,0$  Hz), 2,39 (s, 3H,  $-CH_3$ -Ph), 2,45 (s, 3H,  $-CH_3$ -Ph), 3,03 (s, 2H,  $-CH-N-$ ), 3,09 (s, 2H,  $-CH-$ ), 3,28 (m, 2H,  $-CH-C=O$ ); 7,00 e 7,27 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 8,10$ ) e 7,34 e 7,77 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 8,00$  Hz).

RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,19 ( $-CH_3$ -Ph), 21,61 ( $-CH_3$ -Ph), 31,49 ( $-CH_2-$ ), 37,33 ( $-CH-$ ), 38,67 ( $-CH-N-$ ), 47,08 ( $-CH-C=O$ ), 126,44; 127,95; 128,69; 129,78; 130,00; 134,24; 139,19 e 144,85 (**C** anéis aromáticos) e 175,40 ( $-C=O$ ).

Composto *endo-endo* (**2d**) - RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,93 e 2,33 (2d, 2H,  $-CH_2-$ ,  $J = 9,90$  Hz), 2,33 (s, 3H,  $-CH_3$ -Ph), 2,41 (s, 3H,  $-CH_3$ -Ph), 3,08 (s, 2H,  $-CH-$ ), 3,22 (m, 2H,  $-CH-N-$ ), 3,55 (m, 2H,  $-CH-C=O$ ) e 7,03 – 7,47 (m, 8H, Ar-**H**).

RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,90 ( $-CH_3$ -Ph), 22,29 ( $-CH_3$ -Ph), 40,66 ( $-CH_2-$ ), 48,73 ( $-CH-$ ), 50,36 ( $-CH-N-$ ), 55,96 ( $-CH-C=O$ ), 126,55; 129,15; 129,94; 130,09; 130,72; 133,34; 138,21 e 145,61 (**C** anéis aromáticos) e 175,89 ( $-C=O$ ).

**3.6.5 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL)-4-(4''-METOXIFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO[5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA**



A uma solução de 4,00 g (0,0203 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 30 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 3,27 g (0,0121 mol) de 4-(4'-metoxifenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35e**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 9 horas. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 50 : 50 %) até que o reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. Adicionou-se éter de petróleo e o precipitado formado foi filtrado, à vácuo, e lavado com acetato de etila. Posteriormente os produtos da reação foram separados do reagente de partida utilizado em excesso, através de uma recristalização com éter de petróleo e acetato de etila. Os estereoisômeros foram separados através de uma coluna cromatográfica (eluente: éter de petróleo / acetato de etila 50 : 50 %). Rendimento bruto de 75 % com P.F. 232,3 – 233,6 °C para o estereoisômero *exo-endo* e P.F. 224,6 – 225,3 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

### 3.6.5.1 ANÁLISE ELEMENTAR CHN:

$C_{23}H_{22}N_2O_5S$  requer C 63,00 %, H 5,07 %, N 6,39 %, O 18,23 %, S 7,31 % Obtido: C 63,50 %, H 4,97 % e N 6,57 % para o composto *exo-endo* e C 62,90 %, H 5,21 % e N 6,76 % para o composto *endo-endo*.

### 3.6.5.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

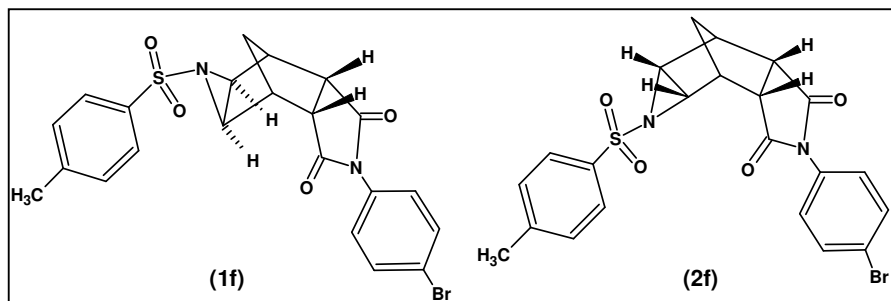
Composto *exo-endo* (**1e**) - RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,26 e 1,61 (m, 2H,  $-CH_2-$ ), 2,46 (s, 3H,  $-CH_3$ -Ph), 3,04 (s, 2H,  $-CH-N-$ ), 3,10 (s, 2H,  $-CH-$ ), 3,29 (m, 2H,  $-CH-C=O$ ), 3,83 (s, 3H,  $-O-CH_3$ ); 7,00 - 7,03 (m, 4H, Ar-**H**) e 7,33 - 7,80 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 7,8$ ).

RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,66 ( $-CH_3$ -Ph), 31,56 ( $-CH_2-$ ), 37,38 ( $-CH-$ ), 38,74 ( $-CH-N-$ ), 47,10 ( $-CH-C=O$ ), 55,49 ( $-O-CH_3$ ), 114,75; 128,00; 129,82 e 144,88 (**C** anéis aromáticos) e 175,59 ( $-C=O$ ).

Composto *endo-endo* (**2e**) - RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,95 e 2,30 (2d, 2H,  $-CH_2-$ ,  $J = 10,0$  Hz), 2,33 (s, 3H,  $-CH_3$ -Ph), 3,10 (s, 2H,  $-CH-$ ), 3,22 (s, 2H,  $-CH-N-$ ), 3,54 (s, 2H,  $-CH-C=O$ ), 3,85 (s, 3H,  $-O-CH_3$ ); 7,00 e 7,50 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 8,4$ ) e 7,08 e 7,42 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 8,0$  Hz).

RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,72 ( $-CH_3$ -Ph), 40,05 ( $-CH_2-$ ), 48,08 ( $-CH-$ ), 49,75 ( $-CH-N-$ ), 55,33 ( $-CH-C=O$ ), 55,53 ( $-O-CH_3$ ), 113,96; 125,59; 127,41; 128,53; 129,49; 132,73; 145,03 e 159,92 (**C** anéis aromáticos) e 175,34 ( $-C=O$ ).

**3.6.6 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL)-4-(4''-BROMOFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO[5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA**



A uma solução de 2,42 g (0,0123 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 40 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 3,00 g (0,00943 mol) de 4-(4'-bromofenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35f**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 16 horas. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: acetato de etila / hexano 70 : 30 %) até que o reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. O precipitado formado foi filtrado, a vácuo, e lavado com etanol eliminando-se assim o reagente de partida utilizado em excesso. Uma fração do estereoisômero *endo-endo* foi separada através de uma recristalização com acetona e etanol. O outro estereoisômero foi separado através de uma coluna cromatográfica (eluente: éter de petróleo / acetato de etila 50 : 50 %). Rendimento bruto de 62 % com P.F. 217,2 – 218,1 °C para o estereoisômero *exo-endo* e P.F. 219,2 – 220,0 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

### 3.6.6.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

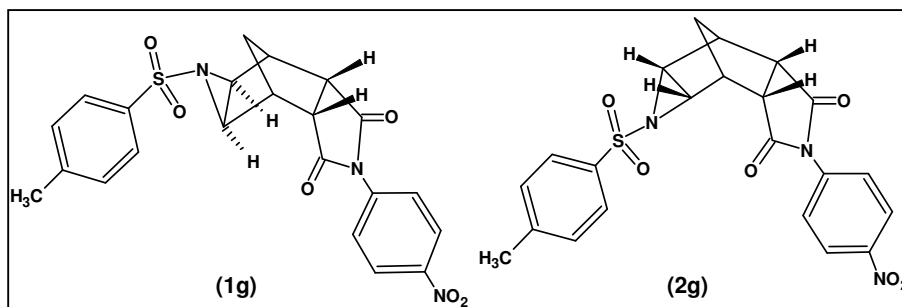
Composto *exo-endo* (**1f**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,20 e 1,88 (2d, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ,  $J = 10,7$  Hz), 2,46 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ -Ph), 3,02 (s, 2H,  $-\text{CH-N-}$ ), 3,11 (s, 2H,  $-\text{CH-}$ ), 3,30 (m, 2H,  $-\text{CH-C=O}$ ); 7,05 e 7,61 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 8,6$ ) e 7,34 e 7,77 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 8,2$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,66 ( $-\text{CH}_3$ -Ph), 31,55 ( $-\text{CH}_2-$ ), 37,24 ( $-\text{CH-}$ ), 38,79 ( $-\text{CH-N-}$ ), 47,16 ( $-\text{CH-C=O}$ ), 123,00; 127,99; 128,19; 129,83; 130,00; 132,61; 134,33; e 144,96 (**C** anéis aromáticos) e 174,94 ( $-\text{C=O}$ ).

Composto *endo-endo* (**2f**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,95 e 2,35 (2d, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ,  $J = 9,0$  Hz), 2,35 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ -Ph), 3,10 (s, 2H,  $-\text{CH-}$ ), 3,23 (m, 2H,  $-\text{CH-N-}$ ), 3,57 (m, 2H,  $-\text{CH-C=O}$ ); 7,07 e 7,36 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 8,0$ ) e 7,45 e 7,59 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 8,7$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,62 ( $-\text{CH}_3$ -Ph), 40,06 ( $-\text{CH}_2-$ ), 48,00 ( $-\text{CH-}$ ), 49,65 ( $-\text{CH-N-}$ ), 55,19 ( $-\text{CH-C=O}$ ), 121,20; 127,50; 128,26; 129,45; 131,73; 132,54 e 145,09 (**C** anéis aromáticos) e 174,80 ( $-\text{C=O}$ ).

### 3.6.7 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL)-4-(4''-NITROFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO[5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA





A uma solução de 3,23 g (0,0164 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 60 mL de tetracloreto de carbono adicionou-se 4,24 g (0,0149 mol) de 4-(4'-nitrofenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35g**) e o sistema foi submetido a um refluxo durante 24 horas. Adicionaram-se 30 mL de clorofórmio, acrescentou-se mais 0,57 g de *p*-toluenossulfonilazida e o refluxo prosseguiu por mais 20 h. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 60 : 40 %) até que o reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. Retirou-se o solvente em um evaporador rotatório e a mistura dos produtos estereoisômeros foi recristalizada em diclorometano e metanol. Desta forma separou-se a mistura de estereoisômeros do reagente de partida utilizado em excesso. Separou-se uma fração do estereoisômero *endo-endo* lavando-se os cristais com acetona. O estereoisômero *exo-endo* foi separado através de uma coluna cromatográfica (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 60 : 40 %). Rendimento bruto de 63 % com P.F. 266,7 – 266,9 °C para o estereoisômero *exo-endo* e P.F. 216,9 – 217,1 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

### 3.6.7.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

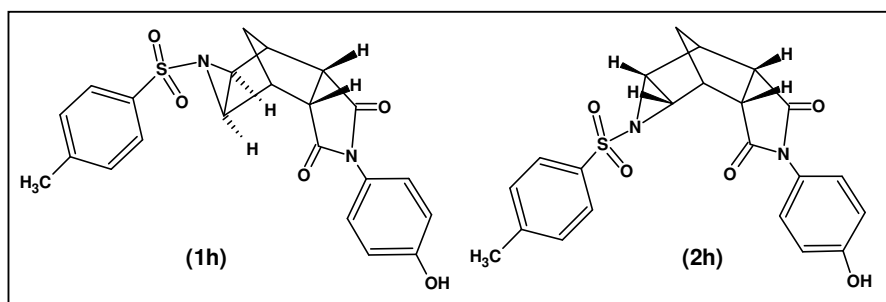
Composto *exo-endo* (**1g**) - RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, TMS) δ: 1,25 e 1,90 (2d, 2H, -CH<sub>2</sub>-, *J* = 10,0 Hz), 2,46 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>-Ph), 3,04 (s, 2H, -CH-N-), 3,14 (s, 2H, -CH-), 3,37 (m, 2H, -CH-C=O); 7,26 – 7,48 (d, 4H, Ar-H, *J* = 8,6) e 7,76 – 8,37 (d, 4H, Ar-H, *J* = 8,6 Hz).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, TMS) δ: 21,65 (-CH<sub>3</sub>-Ph), 31,55 (-CH<sub>2</sub>-), 37,13 (-CH-), 38,91 (-CH-N-), 47,23 (-CH-C=O), 124,55; 127,27; 127,92; 129,84; 134,34; 136,75; 145,05 e 147,31 (C anéis aromáticos) e 174,47 (-C=O).

Composto *endo-endo* (**2g**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 2,0 e 2,33 (2d, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ,  $J = 10,0$  Hz), 2,32 (s, 3H,  $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 3,14 (s, 2H,  $-\text{CH}-$ ), 3,29 (m, 2H,  $-\text{CH-N-}$ ), 3,59 (m, 2H,  $-\text{CH-C=O}$ ); 7,02 – 7,34 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 8,3$ ) e 7,77 – 8,35 (d, 4H, Ar-**H**,  $J = 9,1$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,56 ( $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 40,22 ( $-\text{CH}_2-$ ), 48,05 ( $-\text{CH}-$ ), 49,63 ( $-\text{CH-N-}$ ), 55,09 ( $-\text{CH-C=O}$ ), 123,87; 126,25; 128,12; 129,47; 132,34; 138,20; 145,24 e 146,08 (**C** anéis aromáticos) e 174,50 ( $-\text{C=O}$ ).

### 3.6.8 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL)-4-(4''-HIDROXIFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO[5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA



A uma solução de 4,61 g (0,0234 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 50 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 3,98 g (0,0156 mol) de 4-(4'-hidroxifenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35h**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 15 horas. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: acetato de etila) até que o reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. A mistura dos estereoisômeros foi separada do reagente utilizado em excesso através de uma recristalização com clorofórmio e etanol. Uma fração do composto *endo-endo* foi separada através de

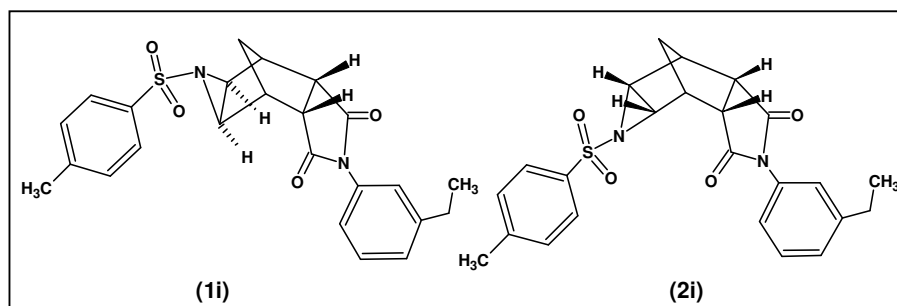
recristalização com diclorometano e éter etílico. Tentativas de separação do estereoisômero *exo-endo* por diferença de solubilidade e por coluna cromatográfica não tiveram sucesso. Rendimento bruto de 81 % com P.F. 128,8 – 129,4 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

### 3.6.8.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

Composto *endo-endo* (**2h**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,97 (m, 1H,  $-\text{CH}_2-$  ponte), 2,33 (s, 4H,  $-\text{CH}_2-$  ponte e  $-\text{CH}_3$ -Ph), 3,11 (s, 2H,  $-\text{CH}-$ ), 3,23 (s, 2H,  $-\text{CH}-\text{N}-$ ), 3,60 (s, 2H,  $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ) e 7,58 (m, 8H, Ar- $\text{H}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,64 ( $-\text{CH}_3$ -Ph), 40,09 ( $-\text{CH}_2-$ ), 47,99 ( $-\text{CH}-$ ), 49,64 ( $-\text{CH}-\text{N}-$ ), 55,25 ( $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ), 121,82; 126,90; 128,36; 129,51; 130,15; 132,61; 145,12 e 149,57 ( $\text{C}$  anéis aromáticos) e 174,96 ( $-\text{C}=\text{O}$ ).

### 3.6.9 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL)-4-(3''-ETILFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO[5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA



A uma solução de 0,89 g (0,0045 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 30 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 0,80 g (0,0030 mol) de 4-(3'-etilfenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35i**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 20 horas. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 50 : 50 %) até que o

reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. Retirou-se o solvente em um evaporador rotatório restando uma goma escura a qual foi tratada com etanol, filtrada e lavada. Obteve-se desta forma uma fração do composto *endo-endo* puro. Do filtrado retirou-se o solvente, restando novamente a goma escura. Desta vez a mesma foi tratada com acetona, filtrada e lavada. Com este procedimento obteve-se uma fração do composto *exo-endo* puro. Rendimento bruto de 90 % com P.F. 189,1 – 191,0 °C para o estereoisômero *exo-endo* e P.F. 155,7 – 156,5 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

### 3.6.9.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

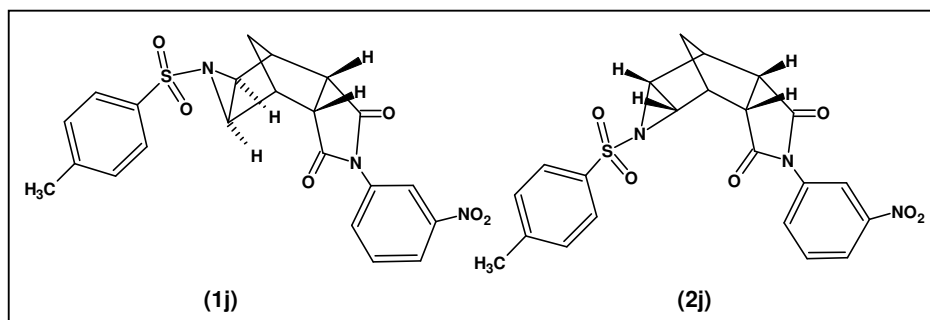
Composto *exo-endo* (**1i**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,25 (s alargado, 4H,  $-\text{CH}_2-$  ponte e  $\text{CH}_3\text{CH}_2-$ ), 1,82 (m, 1H,  $-\text{CH}_2-$  ponte), 2,44 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ -Ph), 2,69 (m, 2H,  $-\text{CH-N-}$ ), 3,09 (s, 4H,  $-\text{CH-}$  e  $\text{CH}_3\text{CH}_2-$ ), 3,29 (s, 2H,  $-\text{CH-C=O}$ ) e 6,99 – 7,76 (m, 8H, Ar-**H**).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 15,78 ( $-\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-Ph}$ ), 22,36 ( $-\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-Ph}$ ), 29,26 ( $-\text{CH}_2-$ ), 38,11 ( $-\text{CH-}$ ), 39,45 ( $-\text{CH-N-}$ ), 47,86 ( $-\text{CH-C=O}$ ), 124,63; 126,87; 128,65; 129,49; 129,99; 130,48; 132,02; 135,22 e 145,56; 146,47; (**C** anéis aromáticos) e 176,11 ( $-\text{C=O}$ ).

Composto *endo-endo* (**2i**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,29 (t, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2-$ ), 1,97 (d, 1H,  $-\text{CH}_2-$  ponte,  $J = 14,0$  Hz), 2,33 (s alargado, 4H,  $-\text{CH}_2-$  ponte e  $-\text{CH}_3$ -Ph), 2,72 (m, 2H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2-$ ), 3,09 (s, 2H,  $-\text{CH-}$ ), 3,24 (s, 2H,  $-\text{CH-N-}$ ), 3,57 (s, 2H,  $-\text{CH-C=O}$ ) e 7,02 – 7,50 (m, 8H, Ar-**H**).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 16,12 ( $-\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-Ph}$ ), 22,28 ( $-\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-Ph}$ ), 40,69 ( $-\text{CH}_2-$ ), 47,46 ( $-\text{CH}-$ ), 50,31 ( $-\text{CH-N-}$ ), 55,97 ( $-\text{CH-C=O}$ ), 124,04; 124,62; 126,32; 126,80; 127,99; 129,17; 130,04; 133,30; 135,26 e 145,57 ( $\text{C}$  anéis aromáticos) e 175,84 ( $-\text{C=O}$ ).

### 3.6.10 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL) - 4-(3''-NITROFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO[5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA



A uma solução de 0,96 g (0,0049 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 30 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 0,92 g (0,0033 mol) de 4-(3'-nitrofenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35j**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 26 horas. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 50 : 50 %) até que o reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. A mistura reacional foi filtrada e lavada, separando-se assim os estereoisômeros do reagente de partida utilizado em excesso. A mistura dos estereoisômeros foi lavada com clorofórmio, separando-se desta forma o estereoisômero *endo-endo*. Tentativas de separação do outro estereoisômero por diferença de solubilidade e por coluna cromatográfica não

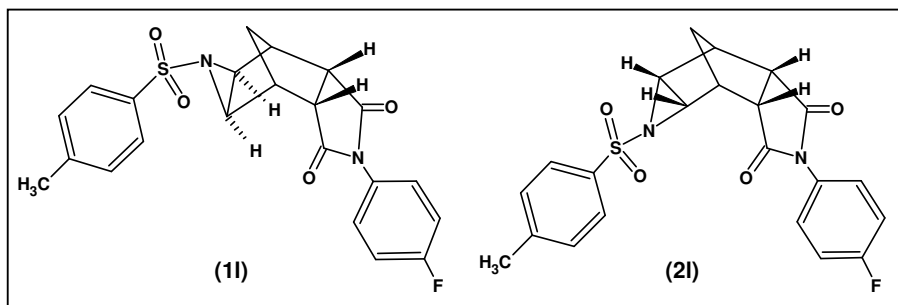
tiveram sucesso. Rendimento bruto de 88 % e decomposição a 280,0 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

### 3.6.10.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

Composto *endo-endo* (**2j**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,90 (m, 1H,  $-\text{CH}_2-$  ponte), 2,32 (s alargado, 4H,  $-\text{CH}_2-$  ponte e  $-\text{CH}_3$ -Ph), 3,16 (s, 2H,  $-\text{CH}-$ ), 3,30 (s, 2H,  $-\text{CH}-\text{N}-$ ), 3,60 (s, 2H,  $-\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ ) e 7,06 – 8,32 (m, 8H, Ar- $\text{H}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (Não foi possível realizar esta análise devido a problemas de solubilidade do composto).

### 3.6.11 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL) - 4-(4''-FLUORFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO[5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA



A uma solução de 6,51 g (0,0127 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 50 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 2,51 g (0,0098 mol) de 4-(4'-fluorfenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35I**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 27 horas. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: acetato de etila / hexano 70 : 30 %) até que o reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. Os produtos estereoisômeros foram separados do reagente de partida utilizado em excesso depois da mistura ser

filtrada e lavada com etanol. Uma fração do composto *endo-endo* foi separada através de uma recristalização com diclorometano e éter etílico. Através de uma recristalização com acetato de etila, clorofórmio e éter etílico separou-se uma fração do composto *exo-endo*. Rendimento bruto de 73 % com P.F. 253,9 – 254,8 °C para o estereoisômero *exo-endo* e P.F. 242,3 – 242,7 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

### 3.6.11.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

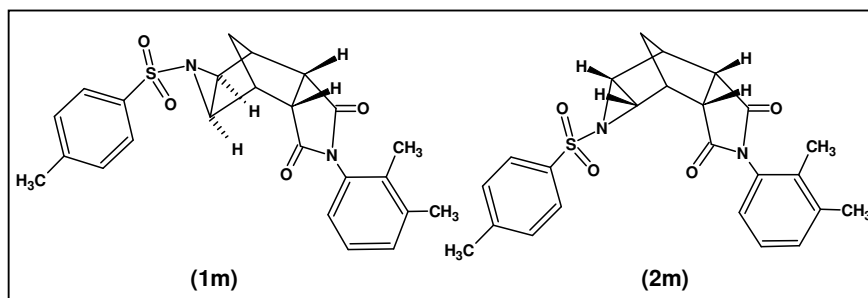
Composto *exo-endo* (**1I**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,22 e 1,83 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$  ponte), 2,46 (s, 3H,  $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 3,04 (s, 2H,  $-\text{CH-N-}$ ), 3,12 (m, 2H,  $-\text{CH-}$ ), 3,32 (m, 2H,  $-\text{CH-C=O}$ ) e 7,15 – 7,77 (m, 8H, Ar-**H**).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 21,69 ( $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 31,57 ( $-\text{CH}_2-$ ), 37,31 ( $-\text{CH-}$ ), 38,78 ( $-\text{CH-N-}$ ), 47,15 ( $-\text{CH-C=O}$ ), 116,29; 116,74; 127,27; 127,99; 128,52; 128,69; 129,85; 134,37; 144,98; 160,03 e 164,98 (**C** anéis aromáticos) e 175,24 ( $-\text{C=O}$ ).

Composto *endo-endo* (**2I**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,93 (d, 1H,  $-\text{CH}_2-$  ponte,  $J = 10,0$  Hz), 2,34 (m, 4H,  $-\text{CH}_2-$  ponte e  $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 3,09 (s, 2H,  $-\text{CH-}$ ), 3,23 (m, 2H,  $-\text{CH-N-}$ ), 3,56 (s, 2H,  $-\text{CH-C=O}$ ) e 7,05 – 7,59 (m, 8H, Ar-**H**).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, TMS)  $\delta$ : 22,31 ( $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 40,75 ( $-\text{CH}_2-$ ), 48,73 ( $-\text{CH-}$ ), 50,38 ( $-\text{CH-N-}$ ), 55,95 ( $-\text{CH-C=O}$ ), 115,99; 116,44; 128,54; 128,71; 129,05; 130,15; 133,29; 145,80 e 164,73 (**C** anéis aromáticos) e 175,74 ( $-\text{C=O}$ ).

**3.6.12 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10S) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-BROMOFENILSULFONIL)-4-(2'',3''-DIMETILFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO [5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA**



A uma solução de 3,32 g (0,0168 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 60 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 3,43 g (0,0128 mol) de 4-(2',3'-dimetilfenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35m**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 21 horas. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: acetato de etila / hexano 70 : 30 %) até que o reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. O estereoisômero *exo-endo* foi separado quando a mistura reacional foi filtrada e lavada com etanol na tentativa de separar os estereoisômeros do reagente de partida utilizado em excesso. O filtrado foi recuperado, filtrado e lavado com acetona. Com este procedimento separou-se uma fração do composto *endo-endo*. Rendimento bruto de 87 % com P.F. 225,6 – 225,9 °C para o estereoisômero *exo-endo* e decomposição a 232,0 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

**3.6.12.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS**

Composto *exo-endo* (**1m**) - RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, TMS) δ: 1,21 (d, 1H, -CH<sub>2</sub>- ponte, *J* = 10,5 Hz), 1,88 (d, 1H, -CH<sub>2</sub>- ponte, *J* = 10,5 Hz), 2,11 (s,



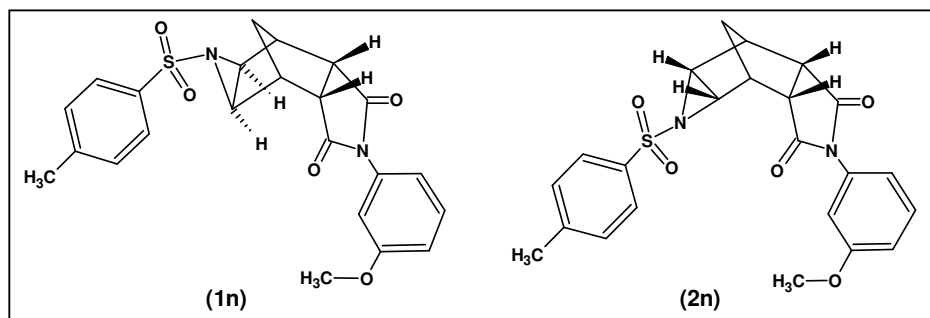
3H, m-**CH**<sub>3</sub>-Ph-N), 2,33 (m, 3H, o-**CH**<sub>3</sub>-Ph-N), 2,46 (s, 3H, p-**CH**<sub>3</sub>-Ph-SO<sub>2</sub>), 3,11 (s, 2H, -**CH**-), 3,20 (s, 2H, -**CH**-N-), 3,35 (s, 2H, -**CH**-C=O) e 6,67 – 7,81 (m, 7H, Ar-**H**).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, TMS) δ: 15,55 (m-**CH**<sub>3</sub>-Ph), 21,14 e 22,36 (o- e p-**CH**<sub>3</sub>-Ph), 32,53 (-**CH**<sub>2</sub>-), 38,08 (-**CH**-), 38,89 (-**CH**-N-), 47,93 (-**CH**-C=O), 125,84; 126,17; 127,09; 127,36; 128,55; 128,76; 130,53; 132,01; 134,88; 135,47; 139,17 e 145,61 (**C** anéis aromáticos) e 176,08 (-**C**=O).

Composto *endo-endo* (**2m**) - RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, TMS) δ: 1,94 (s, 4H, m-**CH**<sub>3</sub>-Ph-N e -**CH**<sub>2</sub>- ponte), 2,31 e 2,35 (s, 7H, o-**CH**<sub>3</sub>-Ph-N, p-**CH**<sub>3</sub>-Ph-SO<sub>2</sub> e -**CH**<sub>2</sub>- ponte), 3,10 (s, 2H, -**CH**-), 3,32 (s, 2H, -**CH**-N-), 3,56 (s, 2H, -**CH**-C=O) e 7,14 – 7,76 (m, 8H, Ar-**H**).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, TMS) δ: 15,07 (m-**CH**<sub>3</sub>-Ph), 21,16 e 22,32 (o- e p-**CH**<sub>3</sub>-Ph), 40,53 (-**CH**<sub>2</sub>-), 48,96 (-**CH**-), 50,55 (-**CH**-N-), 56,24 (-**CH**-C=O), 126,62; 129,26; 130,24; 130,99; 131,99; 133,33; 134,05; 138,32 e 145,76 (**C** anéis aromáticos) e 175,76 (-**C**=O).

### 3.6.13 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL)-4-(4''-METOXIFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO [5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA



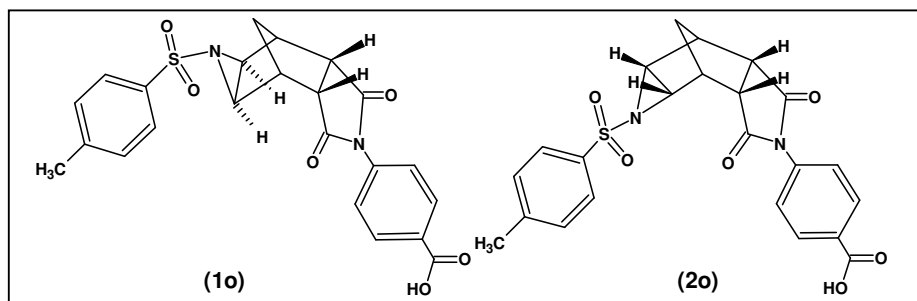
A uma solução de 1,09 g (0,00550 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 25 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 1,23 g (0,00460 mol) de 4-(3'-metoxifenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35n**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 22 horas. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: acetato de etila / hexano 65 : 35 %) até que o reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. Os produtos estereoisômeros foram separados do reagente de partida, utilizado em excesso, depois da mistura ser filtrada e lavada com etanol. Uma fração do composto *endo-endo* foi separada por diferença de solubilidade, seguida de uma recristalização com diclorometano e éter de petróleo. Tentativas de separação do outro estereoisômero por diferença de solubilidade e coluna cromatográfica não tiveram sucesso. Rendimento bruto de 74 % com P.F. 224,6 – 225,3 °C para o estereoisômero *endo-endo*.

### 3.6.13.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

Composto *endo-endo* (**2n**) - RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, TMS) δ: 1,94 e 2,34 (2d, 2H, -CH<sub>2</sub>-, *J* = 9,9 Hz), 2,34 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>-Ph), 3,10 (s, 2H, -CH-), 3,25 (s, 2H, -CH-N-), 3,55 (s, 2H, -CH-C=O), 3,87 (s, 3H, -O-CH<sub>3</sub>); 6,93 – 7,44 (m, 8H, Ar-H).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, TMS) δ: 22,32 (-CH<sub>3</sub>-Ph), 40,77 (-CH<sub>2</sub>-), 48,74 (-CH-), 50,39 (-CH-N-), 55,97 (-CH-C=O), 56,26 (-O-CH<sub>3</sub>), 111,84; 115,43; 119,05; 129,19; 130,00; 130,19; 133,22; 134,32; 145,74 e 160,47 (C anéis aromáticos) e 175,78 (-C=O).

**3.6.14 SÍNTESE DA (2R,6S,8S,10R) E (2R,6S,8R,10S) 9-(4'-METILFENILSULFONIL)-4-(4''-CARBOXIFENIL)-4,9-DIAZATETRACICLO [5.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>8,10</sup>]UNDECANO-3,5-DIONA**



A uma solução de 4,13 g (0,0210 mol) de *p*-toluenossulfonilazida em 80 mL de acetonitrila, previamente destilada, adicionou-se 4,95 g (0,0170 mol) de 4-(4'-carboxifenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35o**) e o sistema foi submetido a um refluxo brando durante 19 horas. Acompanhou-se o progresso da reação por CCD (eluente: clorofórmio / etanol 70 : 30 %) até que o reagente limitante fosse consumido e ocorresse a formação dos dois produtos estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*. Retirou-se o solvente em um evaporador rotatório e adicionou-se etanol. O sistema foi submetido à agitação durante 1 hora e em seguida o precipitado foi filtrado e lavado com o próprio etanol. Desta forma separou-se a mistura dos estereoisômeros do reagente de partida utilizado em excesso. Do filtrado retirou-se o solvente resultando em uma goma escura, a qual foi solubilizada em etanol. Em seguida adicionou-se éter etílico e formou-se um precipitado, o qual foi filtrado e lavado com etanol. Com esse procedimento separou-se uma fração do estereoisômero *exo-endo*. O estereoisômero *endo-endo* foi separado através de uma coluna cromatográfica (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 70 : 30 %). Rendimento bruto de 65 %

e P.F. com decomposição a 230,0 °C para o estereoisômero *exo-endo* e decomposição a 220 °C para o *endo-endo*.

#### 3.6.14.1 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

Composto *exo-endo* (**1o**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,25 e 1,73 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,46 (s, 3H,  $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 3,04 (s, 2H,  $-\text{CH-N-}$ ), 3,12 (s, 2H,  $-\text{CH-}$ ), 3,34 (m, 2H,  $-\text{CH-C=O}$ ) e 7,26 – 8,20 (m, 8H, Ar-**H**).

Composto *endo-endo* (**2o**) - RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, TMS)  $\delta$ : 1,99 (m, 1H,  $-\text{CH}_2-$  ponte), 2,44 (m, 4H,  $-\text{CH}_2-$  ponte e  $-\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 3,14 (s, 2H,  $-\text{CH-}$ ), 3,27 (s, 2H,  $-\text{CH-N-}$ ), 3,61 (s, 2H,  $-\text{CH-C=O}$ ) e 7,00 – 8,22 (m, 8H, Ar-**H**).

### 3.7 DETERMINAÇÃO DOS $\text{pK}_a(\text{s})$

#### 3.7.1 DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL ATRAVÉS DO MÉTODO POTENCIOMÉTRICO

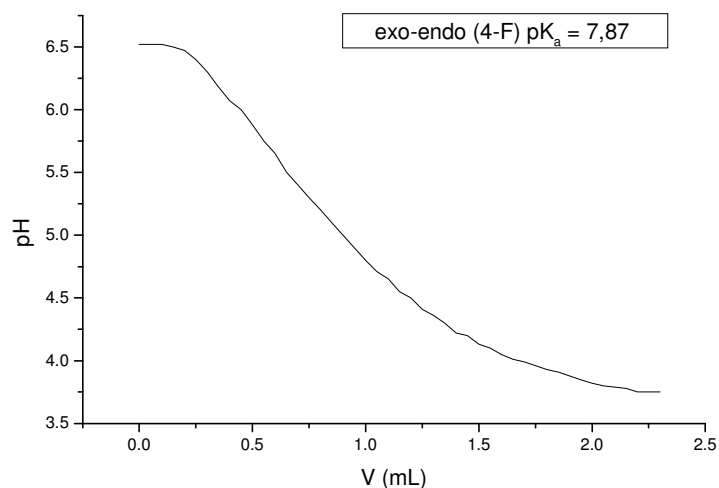
Os valores dos  $\text{pK}_a(\text{s})$  das aziridinas foram determinados através do método potenciométrico. As soluções contendo as aziridinas foram tituladas com HCl. A solução de HCl foi padronizada, potenciometricamente, usando tetraborato de sódio decaidratado ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) como padrão primário. A concentração encontrada para o HCl foi de 0,0032 mol  $\text{L}^{-1}$ .

As soluções estoques das amostras foram preparadas em DMSO, grau espectroscópico, nas concentrações em torno de  $1,0 \times 10^{-2}$  mol  $\text{L}^{-1}$  utilizando-se balões volumétricos de 5 mL.

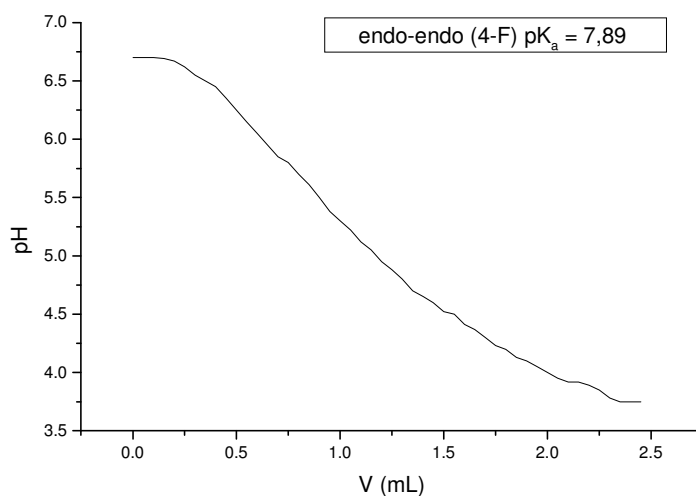
Pipetou-se 1 mL, da solução estoque, de cada uma das aziridinas e transferiu-se para um béquer contendo 10 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  e 10 mL de 1,4-dioxano.

As soluções resultantes foram tituladas potenciométricamente com HCl em temperatura controlada de 25 °C e as respectivas curvas registradas pelo potenciômetro. Este procedimento foi realizado em triplicata para cada uma das aziridinas.

As Figuras 1 e 2 mostram os gráficos de titulação das aziridinas (**1I**) e (**2I**), como exemplo, uma vez que para os outros compostos as curvas foram semelhantes.



**Figura 1 – Titulação potenciométrica da aziridina exo-endo (**1I**)  $X = 4-F$ .**



**Figura 2 – Titulação potenciométrica da aziridina endo-endo (**2I**)  $X = 4-F$ .**

A partir dos gráficos de titulação, registrados pelo potenciômetro, obteve-se os valores de pH e volume gasto de titulante no ponto de equivalência para cada solução de aziridina. Com esses valores foram calculados os valores de  $pK_a(s)$  através da equação (7).

$$pK_a = 2pH + \log [AZH^+] \quad (7)$$

Onde a concentração da espécie  $AZH^+$  é obtida através da equação (8)

$$[AZH^+] = [AZ]_i - [AZ] \quad (8)$$

Onde:

$[AZ]_i$  = concentração inicial da aziridina

$[AZ]$  = concentração da aziridina no equilíbrio

Segundo a equação de equilíbrio (3)



$$[AZ] = [H_3O^+] \quad (5)$$

Substituindo (5) em (8) obtem-se

$$[AZH^+] = [AZ]_i - [H_3O^+] \quad (9)$$

A concentração da espécie  $H_3O^+$  é obtida a partir do valor de pH.

### 3.7.2 DETERMINAÇÃO TEÓRICA ATRAVÉS DE CÁLCULO *AB INITIO*

Através dos cálculos teóricos obteve-se, inicialmente, os valores de Energia Interna (U) para cada uma das estruturas envolvida nos cálculos. Em uma segunda etapa realizou-se o cálculo para os modos vibracionais até a

temperatura de 298,15 K, obtendo-se assim os valores de energia do ponto zero (ZPE) bem como as correções térmicas e entrópicas (G), para os sistemas em fase gasosa.

Levando-se em consideração a equação de hidrólise da aziridina protonada



e a relação

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_a \quad (10)$$

obteve-se os valores de  $K_a$  e conseqüentemente os valores de  $\text{pK}_a(\text{s})$  para uma série de aziridinas.

Pois

$$\Delta G^0 = G^0_{(\text{produtos})} - G^0_{(\text{reagentes})} \quad (11)$$

Onde

$$G^0 = U + \text{ZPE} + G^{\text{rot-vib}}(298 \text{ K}) \quad (12)$$

### 3.8 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

#### 3.8.1 ANIMAIS

Foram utilizados camundongos suíços albinos machos, adultos pesando entre 20 e 25 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os animais foram alojados em número de 20 (vinte) por gaiola plástica, e mantidos em condições controladas de temperatura ( $21 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) e iluminação (ciclo claro/escuro de 12 h) com livre acesso à água e

ração. Os animais permaneceram no laboratório setorial por um período de 72 h antes da realização do protocolo experimental.

Os experimentos envolveram procedimentos experimentais aprovados pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais da UFSC (CEUA # 23080.001156/2001-50/UFSC), delineados de maneira a minimizar o sofrimento dos animais utilizados. Também se procurou utilizar uma quantidade mínima de amostra adequada para as análises estatísticas e extrair o máximo de informações relevantes para o cumprimento dos objetivos propostos.

### **3.8.2 TRATAMENTO COM AS AZIRIDINAS**

Os animais foram pré-tratados com as aziridinas (grupo teste), dissolvidas em óleo de girassol, e administradas por via intraperitoneal (i.p.), 30 min antes das avaliações comportamentais. O volume de administração foi mantido constante (0,1 mL para cada 10 g). Os animais dos grupos controle receberam óleo de girassol pela mesma via e no mesmo volume.

Outros fármacos – Diazepam, ansiolítico padrão (Lab. Roche, São Paulo, Brasil); imipramina, antidepressivo padrão (Sigma Co. St. Louis, USA); foram utilizadas para efeito de validação dos testes.

### **3.8.3 TESTE DO “ROTA-ROD”**

Este teste permite avaliar se os tratamentos promovem incoordenação motora nos animais, por sedação e/ou relaxamento muscular (Borsini et al., 1989).



### **3.8.4 LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO (“PLUS-MAZE”)**

O labirinto em cruz elevado (LCE) é baseado no modelo proposto, para ratos por Pellow (Pellow et al., 1985). A inibição da exploração dos braços abertos reflete o medo induzido e pode ser relatado como o nível de ansiedade experimentado por este animal. Um aumento seletivo nos parâmetros correspondentes aos braços abertos (entradas e tempo) revela um efeito ansiolítico (Pellow et al., 1985, 1986), e o inverso, um efeito ansiogênico. O número de entradas nos braços fechados correlaciona-se positivamente com a atividade locomotora dos animais.

### **3.8.5 AÇÃO ANTIDEPRESSIVA**

#### **3.8.5.1 - TESTE DO DESESPERO COMPORTAMENTAL (TDC)**

Animais pré-tratados com os diferentes compostos em estudo foram submetidos ao teste, do Desespero Comportamental (Natação Forçada), para avaliar possíveis ações antidepressivas (Porsolt et al., 1978). Os antidepressivos, em geral, aumentam a latência para a imobilidade e reduzem o tempo de imobilidade apresentado pelos animais (Detke e Irwin, 1996).

O Teste do Desespero Comportamental (TDC) é usado para o estudo da depressão endógena e consiste em forçar a natação do animal num espaço confinado com água. Após um período inicial de vigorosa atividade, o animal permanece imóvel no pré-teste (24h). Numa imersão subsequente (teste), a pré-disponibilidade para a imobilidade é mais rápida. Acredita-se que a exposição prévia produz um "estado depressivo" no animal (Porsolt et al., 1978). Há evidências contrárias a essa hipótese, porém, a maioria dos antidepressivos

reduz o tempo de imobilidade durante o teste, validando assim o modelo da natação forçada para o estudo de antidepressivos (Borsini et al., 1989).

O registro da imobilidade foi feito da seguinte maneira: cada animal foi colocado, individualmente, em recipientes plásticos (com 25 cm de altura e 15 cm de diâmetro) contendo 14 cm de coluna de água mantida à temperatura de  $22 \pm 1$  °C. Após 15 min, os animais foram removidos e secos à temperatura ambiente em suas gaiolas (pré-teste).

Vinte e quatro horas depois, os animais foram novamente colocados no recipiente (teste), nas mesmas condições do dia anterior, por um período de 5 min, quando, então, mensurou-se o tempo de imobilização com o auxílio de um cronômetro Cassio Quartz Timer TMR-60. O animal foi considerado imóvel quando permaneceu flutuando, fazendo somente movimentos necessários para manter a cabeça fora da água. Entre um animal e outro, os recipientes foram lavados com uma solução aquosa de etanol 10%. A população testada variou entre 6 e 8 animais para o controle e para cada substância. Todos os experimentos foram conduzidos entre 13:00 e 17:00 h.

### **3.8.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados obtidos foram analisados usando-se a análise de variância ANOVA, seguida pelos testes *post hoc* adequados, conforme indicado nas Figuras e Tabelas. Níveis de probabilidade superiores a 95% foram considerados indicativos de significância. O programa estatístico empregado para as análises foi o Instat. Os dados são apresentados em Tabelas ou gráficos, com a média  $\pm$  e.p.m. (GraphPad).

### **3.9 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANALGÉSICA**

#### **3.9.1 ANIMAIS**

Foram usados camundongos Suíços albinos fêmeas, adultos (20 -25 g) para a avaliação da atividade analgésica. Os animais foram alojados em número de 20 (vinte) por gaiola plástica e permaneceram em sala com temperatura ( $21 \pm 1^{\circ} \text{C}$ ) e ciclo de luz 12/12 h (luzes ligadas às 7:00 h) controlados, tendo livre acesso à água e ração, exceto durante a vigência dos experimentos.

#### **3.9.2 ATIVIDADE ANALGÉSICA - DOR INDUZIDA PELA FORMALINA**

Os animais tratados com veículo, compostos em estudo e fármaco padrão (aspirina 100 mg/kg em carboximetilcelulose a 2,5%) foram, meia hora após, ligeiramente anestesiados com éter e 20  $\mu\text{l}$  de formalina 2,5% (0,92% de formaldeído), preparada em solução salina tamponada (PBS), foi injetado intraplantarmente na pata direita. O mesmo volume de PBS foi injetado na pata esquerda do animal. Os animais foram colocados em um cilindro de vidro (20 cm de diâmetro), ao lado de um espelho, para facilitar a observação do comportamento nociceptivo. Logo após a injeção da formalina, o número de vezes que os animais lamberam (*licking*) ou morderam a pata injetada com formalina foi quantificado (em segundos), durante 30 min após a injeção, sendo esse tempo considerado como indicativo de dor (Hunskar e Hole, 1987; Murray et al., 1988).

### 3.10 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBIÓTICA

O método mais utilizado para mensuração “in vitro” da suscetibilidade microbiana aos fármacos é o teste de difusão em ágar. Este apresenta as vantagens de ser simples, econômico e reprodutível. A metodologia utilizada neste ensaio para avaliação da atividade antibiótica dos compostos testados foi adaptada do teste de Kirby–Bauer, aceito pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Para execução dos ensaios de sensibilidade aos compostos sintetizados, foram selecionadas três espécies bacterianas e uma espécie fúngica de grande interesse na clínica médica, e cujos parâmetros fisiológicos são bem estudados.

#### 3.10.1 ISOLADOS BACTERIANOS

Para execução dos testes de inibição da atividade bacteriana foram selecionadas cepas de três espécies diferentes, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Para o gênero *S. aureus* e *E. coli* foram utilizadas as cepas padrão ATCC 25923 e ATCC 25922, respectivamente, e isolados clínicos que apresentaram resistência aos antibióticos usuais. Para o gênero *P. aeruginosa*, foram utilizados dois isolados clínicos, um sensível e outro resistente aos fármacos de eleição. Os isolados clínicos foram identificados através dos métodos bioquímicos pertinentes.

### 3.10.2 ISOLADO FÚNGICO

Para avaliação da atividade antifúngica, foi utilizada cepa padrão de leveduras da espécie *Candida albicans* (12 A – USP).

### 3.10.3 CONCENTRAÇÕES TESTADAS

Foi estabelecida uma concentração limite, adotada conforme protocolo, em torno de  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ , considerando uma relação favorável entre toxicidade e efeito biológico. Os compostos não substituídos *exo-endo* (**1a**) e *endo-endo* (**2a**) foram testados a partir das concentrações de  $490 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $550 \mu\text{g mL}^{-1}$ . A partir daí, foram efetuadas as seguintes diluições :  $245 \mu\text{g mL}^{-1}$  ;  $122,5 \mu\text{g mL}^{-1}$  ;  $61,25 \mu\text{g mL}^{-1}$  ;  $30,625 \mu\text{g mL}^{-1}$  ;  $15,312 \mu\text{g mL}^{-1}$  ;  $7,65 \mu\text{g mL}^{-1}$  para o composto *exo-endo* (**1a**) e  $275 \mu\text{g mL}^{-1}$  ;  $137,5 \mu\text{g mL}^{-1}$  ;  $68,75 \mu\text{g mL}^{-1}$  ;  $34,375 \mu\text{g mL}^{-1}$  ;  $17,187 \mu\text{g mL}^{-1}$  ;  $8,93 \mu\text{g mL}^{-1}$  para o composto *endo-endo* (**2a**). Igual procedimento foi realizado para os compostos substituídos. As diluições foram efetuadas em Dimetilsulfóxido (DMSO), previamente testado frente aos microrganismos utilizados nos ensaios, de modo a garantir a não interferência do veículo sobre o resultado do teste.

### 3.11 AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE GERAL

Os ovos microcrustáceo *Artemia salina* Leach foram colocados em um recipiente contendo água marinha artificial. O recipiente contém uma parte protegida da luz, onde os ovos são colocados, separados, por uma peneira, de outra parte que fica exposta à iluminação artificial. Após um período de 48 horas, os ovos eclodem e as larvas migram para a parte iluminada. Foram colocadas 10

larvas em cada um dos cinco tubos de ensaio teste no tubo de ensaio controle. Em cada tubo de ensaio colocou-se volume diferente da solução estoque contendo a amostra e completou-se com água marinha até um volume total de 5 mL. Após 24 horas as larvas mortas e vivas foram contadas e os valores da  $CL_{50}$  calculados utilizando metodologia estatística adequada (Meyer et al., 1982; Siqueira et al., 1998). O teste foi realizado em quadruplicata para cada uma das substâncias. Oito pares de estereoisômeros, com os substituintes X = H, 4-Cl, 3,4-diCl, 4-CH<sub>3</sub>, 4-OCH<sub>3</sub>, 4-F, 2,3-dimetil e 4-COOH foram previamente solubilizados em H<sub>2</sub>O / DMSO na razão de 1 : 1 e adicionados em cada tubo de ensaio teste de modo que a concentração variou de 0,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  a 1,0  $\text{mmol L}^{-1}$ . No tubo de ensaio controle adicionou-se apenas o solvente (H<sub>2</sub>O / DMSO).

A água do mar artificial foi preparada na proporção de 24 g de NaCl; 1,5 g de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; 0,10 g de KBr; 0,70 g de KCl; 4 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,20 g de NaHCO<sub>3</sub> e 11 g de MgCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O para cada litro de água destilada (Meyer et al., 1982).

### **3.12 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA**

#### **3.12.1 CÉLULAS**

As células tumorais do Carcinoma de Ehrlich são derivadas de um adenocarcinoma mamário espontâneo de camundongo e adaptado à forma ascítica. As células foram mantidas intraperitonalmente em camundongo Suíço de 12 – 14 dias. Ao serem retiradas, as células foram cultivadas em meio de cultura RPMI 1640 completo, sob atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C.

### 3.12.2 ENSAIO COM MTT

Os ensaios de citotoxicidade *in vitro* foram realizados com ascites de  $\pm$  12 dias do carcinoma de Ehrlich implantado intraperitonealmente em camundongo Suíço.

O método utilizado foi o de Mossman, com MTT como corante de células viáveis. A concentração de células de Ehrlich nos ensaios foi de  $5 \times 10^5$  cels/mL. As benzenossulfonilaziridinas em estudo foram adicionadas em doses crescentes, obtidas por diluições sucessivas até  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  aos poços em triplicata. Após a incubação que variou de 48 à 96 h, em câmara de  $\text{CO}_2$  (5 %) a  $37^\circ\text{C}$ , adicionou-se  $20 \mu\text{L}$  de solução de MTT (5 mg/mL em salina) por poço. Novamente a placa foi incubada sob mesma atmosfera por 4 h. Ao término deste tempo, foi adicionado  $100 \mu\text{L}$  de isopropanol acidificado ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) para dissolver a formazana.

A placa foi então analisada em espectrofotômetro Elisa a 570 nm, onde foram obtidos os valores de absorbância utilizados para a determinação das  $\text{IC}_{50}$ . Foram realizados no mínimo 3 ensaios independentes para cada substância avaliada.

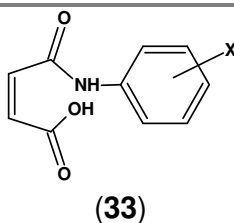
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 SÍNTESE DOS COMPOSTOS

#### 4.1.1 N-FENILMALEIMIDAS

Inicialmente, foram preparados os ácidos N-fenilmaleâmicos resultantes da acilação de anilinas substituídas com o anidrido maleico, (Esquema 8, Item 3.2) reação esta já bastante conhecida e estudada (Cechinel Filho et al., 2003), o que possibilitou a obtenção dos produtos com rendimentos acima de 90 % conforme mostrado na Tabela 7.

**TABELA 7 – RENDIMENTOS E PONTOS DE FUSÃO DOS ÁCIDOS N-FENIL-MALEÂMICOS**



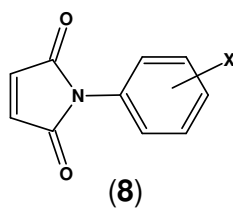
ESTRUTURA	X	R <sup>a</sup> (%)	P.F. (°C)
<b>33a</b>	H	90	191,0 – 192,8
<b>33b</b>	4-Cl	95	193,8 – 194,0
<b>33c</b>	3,4-diCl	90	200,7 – 202,3
<b>33d</b>	4-CH <sub>3</sub>	94	205,3 – 205,8
<b>33e</b>	4-OCH <sub>3</sub>	96	139,3 – 141,8
<b>33f</b>	4-Br	96	198,7 – 199,2
<b>33g</b>	4-NO <sub>2</sub>	91	185,7 – 187,1
<b>33h</b>	4-OH	96	192,7 – 193,4

<sup>a</sup> Rendimento após purificação em relação ao reagente limitante (anilina).



Os ácidos foram posteriormente submetidos a uma reação de ciclização, seguida de eliminação de água, utilizando-se como agente desidratante anidrido acético na presença de acetato de sódio anidro, resultando nas N-fenilmaleimidas também com excelentes rendimentos (Tabela 8).

**TABELA 8 – RENDIMENTO E PONTO DE FUSÃO DAS N-FENILMALEIMIDAS**



ESTRUTURA	X	R <sup>a</sup> (%)	P.F. (°C)	
			EXPERIMENTAL	LITERATURA <sup>b</sup>
<b>8a</b>	H	83	88,8 – 89,1	88 – 89
<b>8b</b>	4-Cl	88	115,0 – 116,6	-
<b>8c</b>	3,4-diCl	89	167,9 – 168,8	-
<b>8d</b>	4-CH <sub>3</sub>	97	152,0 – 152,6	-
<b>8e</b>	4-OCH <sub>3</sub>	85	151,9 – 153,7	148,5
<b>8f</b>	4-Br	80	129,2 – 130,1	-
<b>8g</b>	4-NO <sub>2</sub>	96	167,3 – 167,5	-
<b>8h</b>	4-OH	82	150,3 – 151,3	145

<sup>a</sup> Rendimento após purificação em relação ao reagente limitante (ácido N-fenilmaleâmico).

<sup>b</sup> (Cava et al., 1973; Beilstein – Handbuch)

A confirmação estrutural das N-fenilmaleimidas foi realizada através de análises espectroscópicas de RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C e ainda, para algumas delas, análise elementar CHN, conforme descrito na parte experimental. Descreve-se aqui como exemplo, uma vez que para as outras N-fenilmaleimidas os resultados foram semelhantes, os espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C da 1-(4'-metilfenil)-pirrol-2,5-diona (**8d**) (Figura 3 e 4).

*Figura 3 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  correspondente a 1-(4'-metilfenil)-pirrol-2,5-diona (8d).*

*Figura 4 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  correspondente a 1-(4'-metilfenil)-pirrol-2,5-diona (8d).*

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  apresentou dois singletos em  $\delta$  2,38 e 6,83, correspondentes aos hidrogênios do grupo metila e aos hidrogênios olefínicos **3** e **4**, respectivamente, e um multipeto entre  $\delta$  7,18 e 7,29 correspondente aos hidrogênios do anel benzênico.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  apresentou os seguintes sinais: em  $\delta$  21,11 correspondente ao carbono primário da metila ligada ao anel aromático, em  $\delta$  125,99 atribuídos aos carbonos na posição *meta*, do anel aromático em relação ao nitrogênio, os quais são quimicamente equivalentes devido à simetria da molécula; em  $\delta$  128,45 correspondente ao carbono *ipso* na posição **4** do anel; em  $\delta$  129,76 referente aos carbonos na posição *orto* do anel em relação ao nitrogênio, também equivalentes entre si; em  $\delta$  134,24 correspondente aos carbonos **3** e **4** da olefina, também equivalentes entre si; em  $\delta$  138,03 atribuído ao carbono *ipso* na posição **1** do anel; e por último em  $\delta$  169,65 correspondente as carbonilas **2** e **5**, também equivalentes. A atribuição dos sinais, nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ , foi baseada em cálculos a partir de Tabelas constantes na literatura (Pretsch et al., 1989).

#### 4.1.2 SUCCINIMIDAS

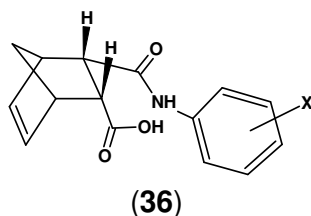
As succinimidas com substituintes  $\text{X} = \text{H}$  (**35a**), 4-Cl (**35b**), 3,4-diCl (**35c**), 4- $\text{CH}_3$  (**35d**), 4- $\text{OCH}_3$  (**35e**), 4-Br (**35f**), 4- $\text{NO}_2$  (**35g**) e 4-OH (**35h**) (Tabela 10), conforme descrito na parte experimental (Esquema 10, item **3.4**), foram obtidas através da reação de Diels-Alder, das respectivas N-fenilmaleimidas com o ciclopentadieno, utilizando-se o método descrito por Chenier (Chenier et al., 1992), no qual se utiliza éter etílico como solvente e o dicitopentadieno

previamente destilado como precursor do dieno, e mantendo-se a temperatura de  $-10^{\circ}\text{C}$ .

Devido ao grande período de tempo gasto na síntese das succinimidas, partindo-se de cada uma das anilinas, e também devido à periculosidade com o manuseio do ciclopentadieno pela sua alta toxidez, procurou-se um método alternativo. Para a síntese das succinimidas com  $X = 3$ -etil (**35i**), 3- $\text{NO}_2$  (**35j**), 4-F (**35l**), 2,3-dimetil (**35m**), 3- $\text{OCH}_3$  (**35n**) e 4- $\text{COOH}$  (**35o**), preparou-se inicialmente o anidrido norbornenossuccínico (oxa-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona) (**34**), em grande quantidade, através da reação de Diels-Alder do anidrido maleico com o ciclopentadieno (Esquema 9, item **3.3**). Através deste procedimento realizou-se a reação de Diels-Alder apenas uma única vez para a síntese desta série de norbornenossuccinimidas, ao contrário do procedimento anterior, em que era necessária a realização de uma reação de Diels-Alder para cada uma das norbornenossuccinimidas sintetizadas.

Através da reação de acilação, do oxa-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**34**) com as anilinas substituída (Esquema 11, item **3.4**), seguindo procedimento semelhante a preparação dos ácidos N-fenilmaleâmicos, preparou-se primeiramente os ácidos N-fenilnorbornenossuccínicos. Estes ácidos foram obtidos com bons rendimentos, conforme mostrado na Tabela 9.

**TABELA 9 – RENDIMENTOS E PONTOS DE FUSÃO DOS ÁCIDOS N-FENILNORBORNENOSSUCCÍNICOS**



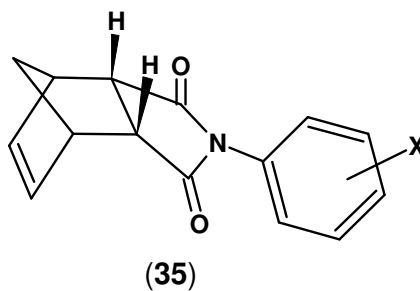
ESTRUTURA	X	R <sup>a</sup> (%)	P.F. (°C)
<b>36i</b>	3-etil	62	91,5 – 91,7
<b>36j</b>	3- NO <sub>2</sub>	60	147,6 – 147,9
<b>36l</b>	4-F	90	141,6 – 142,5
<b>36m</b>	2,3-dimetil	87	135,6 – 136,7
<b>36n</b>	3-OCH <sub>3</sub>	72	135,3 – 136,2
<b>36o</b>	4-COOH	91	226,8 – 227,4

<sup>a</sup> Rendimento após purificação em relação ao reagente limitante (anilinas).

Os ácidos N-fenilnorborenossuccínicos revelaram apenas uma mancha na CCD e em seguida foram convertidos nas respectivas succinimidas através de uma reação de ciclização, seguindo procedimento semelhante à preparação das N-fenilmaleimidas. Os rendimentos e os pontos de fusão são mostrados na Tabela 10.

Conforme mostra a Tabela 10, para ambos os métodos utilizados, obteve-se os produtos com excelentes rendimentos.

Os pontos de fusão das succinimidas, sintetizadas neste trabalho, estão condizentes com os pontos de fusão, das succinimidas, encontrados na literatura (Salakhov et al., 1979; Konovalov et al., 1967; Morgan et al 1944).

**TABELA 10 – RENDIMENTOS E PONTOS DE FUSÃO DAS SUCCINIMIDAS**

P.F. (°C)				
ESTRUTURA	X	R <sup>a</sup> (%)	EXPERIMENTAL	LITERATURA <sup>b</sup>
<b>35a</b>	H	71	143,9 – 144,9	144
<b>35b</b>	4-Cl	75	141,4 – 142,9	-
<b>35c</b>	3,4-diCl	67	163,8 – 164,6	-
<b>35d</b>	4-CH <sub>3</sub>	73	158,2 – 158,6	157 – 158
<b>35e</b>	4-OCH <sub>3</sub>	76	171,6 – 173,0	169 – 170
<b>35f</b>	4-Br	69	149,4 – 151,6	156
<b>35g</b>	4-NO <sub>2</sub>	60	184,9 – 185,2	190 – 191
<b>35h</b>	4-OH	98	187,9 – 188,8	186
<b>35i</b>	3-etil	90	108,5 – 108,8	-
<b>35j</b>	3-NO <sub>2</sub>	90	177,8 – 178,4	174 – 175
<b>35l</b>	4-F	97	180,2 – 180,8	-
<b>35m</b>	2,3-dimetil	79	188,3 – 188,7	-
<b>35n</b>	3-OCH <sub>3</sub>	60	101,5 – 102,0	-
<b>35o</b>	4-COOH	83	233,8 – 234,7	-

<sup>a</sup> Rendimento após purificação em relação ao reagente limitante (N-fenilmaleimida).

<sup>b</sup> (Salakhov et al., 1979; Konovalov et al., 1967; Morgan et al 1944)

Em ambas as metodologias utilizadas para a síntese das succinimidas não foram observadas, em nenhum momento, a formação das *exo*-succinimidas. Durante o acompanhamento das reações, através da CCD, observou-se sempre, apenas uma mancha correspondente a um único produto.

Em todas as reações formou-se exclusivamente a *endo* succinimida, o que foi confirmado pelo espectro de RMN  $^1\text{H}$ .

De acordo com a literatura (Streitwieser Jr e Heathcock, 1981; March, 1992; Carey e Sundberg, 1980; Carruthers, 1993) o produto de adição *endo* é o mais favorecido termodinamicamente.

As estruturas das N-fenilnorbornenossuccinimidas foram confirmadas através de análises espectroscópicas de RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  e para algumas, análise elementar CHN, conforme descrito na parte experimental.

Descreve-se aqui o resultado dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  correspondente a 4-(4'-metilfenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35d**) (Figura 5 e 6) como exemplo, uma vez que para as outras succinimidas os resultados foram semelhantes.

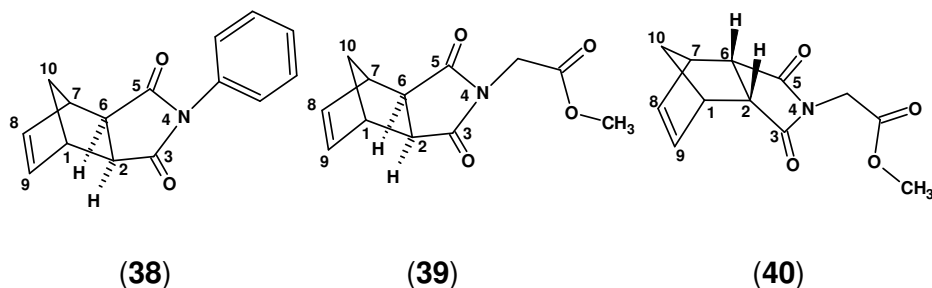
Observou-se no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 5) dois dubletos em  $\delta$  1,60 e 1,78, correspondentes aos hidrogênios ligados ao carbono **10** ( $\text{CH}_2$  da ponte), com uma constante de acoplamento geminal  $J = 9,00$  Hz aproximadamente; um singleto em  $\delta$  2,35, correspondente aos hidrogênios do grupo metila ligado ao anel aromático; dois singletos em  $\delta$  3,41 e 3,49, atribuídos aos hidrogênios dos carbonos **1** e **7** e aos hidrogênios dos carbonos **2** e **6**; um singleto em  $\delta$  6,25, correspondente aos hidrogênios olefínicos dos carbonos **8** e **9**; e por último dois dubletos, em  $\delta$  7,00 e 7,22, típicos de anéis benzênicos *p*-substituídos, com uma constante de acoplamento  $J = 8,10$  Hz caracterizando um sistema AA'XX'.



*Figura 5 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  correspondente a 4-(4'-metilfenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6</sup>-endo]dec-8-eno-3,5-diona (35d).*

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 6) apresentou os seguintes sinais: em  $\delta$  21,21 correspondente ao carbono do grupo metila; em  $\delta$  45,47 e 45,77 atribuídos ao carbono **10** e aos carbonos **1** e **7**, estes equivalentes entre si devido a simetria da molécula; em  $\delta$  52,22 correspondentes aos carbonos **2** e **6** também equivalentes; em  $\delta$  126,47 devido aos carbonos na posição *meta*, do anel aromático em relação ao nitrogênio, os quais são quimicamente equivalentes; em  $\delta$  129,20 correspondente ao carbono *ipso* na posição **4** do anel; em  $\delta$  129,75 atribuído aos carbonos na posição *orto* do anel em relação ao nitrogênio, também equivalentes entre si; em  $\delta$  134,59 devido aos carbonos **3** e **4** da olefina, também equivalentes entre si; em  $\delta$  138,67 correspondente ao carbono *ipso* na posição **1** do anel; e por último em  $\delta$  177,00 caracterizando as carbonilas **3** e **5**, também equivalentes. Neste caso a atribuição dos sinais, nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ , também foi baseada em cálculos à partir de Tabelas constantes na Literatura (Pretsch et al., 1989).

A configuração da 4-(4'-metilfenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6-endo</sup>]dec-8-eno-3,5-diona (**35e**) e das outras succinimidas foi determinada por comparação de seus espectros de RMN  $^1\text{H}$  com aqueles das *exo*- (**38**) e (**39**) e *endo*-succinimidas (**35a**) e (**40**) existentes na literatura (Biagini et al., 1997; Baldwin et al., 1970).



*Figura 6 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  correspondente a 4-(4'-metilfenil)-4-aza-triciclo[5.2.1.0<sup>2,6</sup>-endo]dec-8-eno-3,5-diona (35d).*

Os hidrogênios ligados ao carbono **10** (CH<sub>2</sub> da ponte), encontram-se em ambientes químicos diferentes e conseqüentemente apresentaram deslocamentos diferentes ( $\delta$  1,63 e 1,80). Acredita-se que a dupla ligação, dos carbonos **8** e **9**, produziu um efeito de campo desblindando o hidrogênio cujo sinal conseqüentemente se apresentou em campo mais baixo.

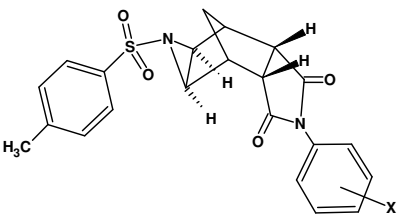
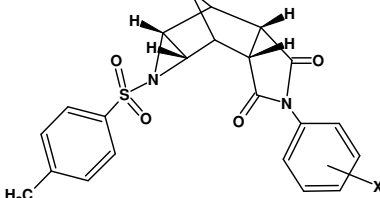
#### 4.1.3 P-TOLUENOSSULFONILAZIDA

A p-toluenossulfonilazida foi preparada através de um processo relativamente simples, pois após refluxo em metanol, dos reagentes, adicionou-se água ao meio reacional e extraiu-se o produto com clorofórmio. Após a evaporação do solvente, o produto foi obtido praticamente puro, o que permitiu a utilização deste sem a necessidade de purificação adicional.

#### 4.1.4 AZIRIDINAS

As benzenossulfonilaziridinas foram sintetizadas, através de uma reação do tipo 1,3-dipolar entre norbornenossuccinimidas (**35**) e a p-toluenossulfonilazida (**37**), conforme descrito na parte experimental (Esquema 13, item **3.6**). Os resultados, como pontos de fusão e rendimentos, encontram-se resumidos na Tabela 11. As análises espectroscópicas e a análise elementar foram descritas na parte experimental e serão discutidas neste item.

TABELA 11 – RENDIMENTOS E PONTOS DE FUSÃO DAS AZIRIDINAS

 <p>(1)</p>					 <p>(2)</p>		
SUBST.		EXO-ENDO			ENDO-ENDO		
X	R <sup>a</sup> (%)	EST.	R <sup>b</sup> (%)	P.F. (°C )	EST.	R <sup>b</sup> (%)	P.F. (°C )
H	90	<b>1a</b>	36	250,1 – 251,3	<b>2a</b>	52	253,0 – 254,9
4-Cl	70	<b>1b</b>	39	230,3 – 231,8	<b>2b</b>	51	249,7 – 251,3
3,4-diCl	72	<b>1c</b>	26	203,5 – 204,9	<b>2c</b>	68	206,9 – 207,5
4-CH <sub>3</sub>	74	<b>1d</b>	35	230,7 – 231,2	<b>2d</b>	32	244,9 – 246,4
4-OCH <sub>3</sub>	75	<b>1e</b>	31	232,3 – 233,6	<b>2e</b>	44	224,6 – 225,3
4-Br	62	<b>1f</b>	26	217,2 – 218,1	<b>2f</b>	21	219,2 – 220,0
4-NO <sub>2</sub>	63	<b>1g</b>	18	266,7 – 266,9	<b>2g</b>	21	216,9 – 217,1
4-OH	81	<b>1h</b>	-	-	<b>2h</b>	24	128,8 – 129,4
3-etil	90	<b>1i</b>	34	189,1 – 191,0	<b>2i</b>	29	155,7 – 156,5
3- NO <sub>2</sub>	88	<b>1j</b>	-	-	<b>2j</b>	51	dec. a 280,0
4-F	73	<b>1l</b>	20	253,9 – 254,8	<b>2l</b>	18	242,3 – 242,7
2,3-dimetil	87	<b>1m</b>	42	225,6 – 225,9	<b>2m</b>	29	dec. a 232,0
3-OCH <sub>3</sub>	74	<b>1n</b>	-	-	<b>2n</b>	24	239,8 – 240,7
4-COOH	65	<b>1o</b>	29	dec. a 230,0	<b>2o</b>	18	dec. A 220,0

<sup>a</sup> Rendimento da mistura dos estereoisômeros em relação ao reagente limitante (succinimida);

<sup>b</sup> Rendimento em relação à fração submetida à purificação por coluna ou recristalização.

A formação de estereoisômeros foi detectada, inicialmente, por CCD em todas as reações das aziridinas e, posteriormente, confirmada através de análises espectroscópicas de RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  e para algumas delas análise elementar CHN.

Inicialmente observou-se, através da CCD, após o período de refluxo, o aparecimento de três manchas sendo uma delas correspondente a *p*-toluenossulfonilazida, a qual foi utilizada em excesso, e as outras duas correspondentes aos estereoisômeros.

As reações das aziridinas foram acompanhadas por CCD até que o reagente limitante, a succinimida, fosse totalmente consumido. Os precipitados formados, em cada reação, foram filtrados à vácuo e lavados com éter de petróleo em algumas reações e com metanol em outras. Com este procedimento obteve-se a mistura dos dois estereoisômeros com bons rendimentos brutos.

Numa tentativa de separar a *p*-toluenossulfonilazida por solubilidade, a mistura sólida dos três compostos foi lavada com clorofórmio. Ao contrário do que se esperava, observou-se que no funil ficou retido um sólido branco que apresentou apenas uma mancha na CCD. Submetendo-se a uma análise de  $^1\text{H}$  constatou-se tratar do isômero *endo-endo* (**2a**). Este procedimento foi repetido para outros compostos e também com outros solventes de média polaridade, como acetato de etila e acetona, conforme descrito na parte experimental. Obteve-se sucesso em alguns casos com o estereoisômero *exo-endo* e em outros com o *endo-endo*.

Muitos compostos, após uma prévia separação por diferença de solubilidade, foram submetidos a sucessivas recristalizações até total purificação.

Nas recristalizações foram utilizados solventes de média polaridade, como clorofórmio, diclorometano, acetona e acetato de etila, bem como misturas destes solventes com solventes mais apolares como hexano e éter de petróleo. Em alguns casos utilizou-se mistura de solventes de média polaridade, em diversas proporções, devido a solubilidade das aziridinas nos mesmos, com solventes mais polares como metanol e etanol. Em especial a mistura de clorofórmio / metanol foi efetiva na recristalização de vários compostos.

Em muitos casos foi possível separar apenas um dos estereoisômeros por diferença de solubilidade. A mistura restante contendo um dos compostos em maior proporção, devido a prévia separação, foi submetida à cromatografia de coluna.

Nas colunas cromatográficas foram utilizadas diferentes misturas de solventes, bem como diferentes proporções entre eles. Em alguns casos, conforme descrito na parte experimental, foi necessário misturas de até três eluentes como por exemplo acetato de etila / acetona / hexano 30 : 15 : 55 %.

As colunas cromatográficas foram preparadas, somente após exaustivas tentativas de encontrar uma melhor resolução entre os estereoisômeros utilizando técnicas de CCD. Mesmo assim em muitos casos não foi possível a separação por coluna, devido a mobilidade relativa do composto em relação ao solvente (*r. f.*), ser muito semelhante para ambos os estereoisômeros. Em muitos casos somente um dos estereoisômeros foi separado por coluna.

Na maioria das reações as aziridinas precipitaram no meio reacional, porém no caso dos compostos **(1f)** e **(2f)** X = 4-Br, após 14 h de refluxo toda a succinimida foi consumida, mas os produtos não precipitaram no meio reacional

(acetonitrila). Foi necessário adicionar éter de petróleo para que isto ocorresse. O precipitado foi filtrado e lavado com o próprio éter de petróleo. As tentativas de separação por diferença de solubilidade não tiveram sucesso neste caso. Após sucessivas recristalizações, com clorofórmio e metanol, separou-se a *p*-toluenossulfonilazida da mistura contendo os isômeros.

Os isômeros foram separados, um do outro, através de uma coluna cromatográfica (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 50 : 50 %) e cada um deles foi ainda recristalizado em acetato de etila e éter de petróleo, sendo que somente desta forma foi possível obter os compostos puros.

A síntese dos compostos (**1g**) e (**2g**) X = 4-NO<sub>2</sub> foram relativamente mais difíceis do que as outras, depois de 28 h de refluxo, a succinimida ainda não havia sido totalmente consumida. A CCD (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 60 : 40 %) mostrou que haviam três manchas, além das correspondentes aos reagentes de partida. Uma separação por coluna nesta etapa seria inviável, uma vez que os *r. f.* da succinimida e dos isômeros não apresentavam uma boa resolução e, além disso, havia uma outra mancha correspondente a uma substância não identificada.

Depois de sucessivas recristalizações em acetato de etila e éter de petróleo, foi possível eliminar os reagentes de partida. Como consequência, o rendimento bruto da mistura restante em relação ao reagente de partida limitante diminuiu sensivelmente (63 %). A mistura então foi submetida a uma coluna cromatográfica (eluente: acetato de etila / éter de petróleo 60 : 40 %) e obteve-se uma fração de cada um dos isômeros puros.



Não foi possível isolar a substância responsável pela outra mancha na CCD, devido a sua baixa concentração, não sendo possível também identificá-la. Sendo assim, não foi descoberto se a mesma tratava-se de um subproduto da reação ou apenas um contaminante.

Para o grupo de estereoisômeros *endo-endo*, todos os compostos sintetizados foram separados e caracterizados, porém para o grupo *exo-endo* não foi possível separar os estereoisômeros das benzenossulfonilaziridinas substituídas com os grupos 4-OH, 3-NO<sub>2</sub> e 3-OCH<sub>3</sub>. Após exaustivas tentativas de separação por coluna cromatográfica, recristalizações, filtrações à vacuo e por diferença de solubilidade, desistiu-se devido ao grande período de tempo gasto e o volume de solvente comprometido.

Conforme comentado anteriormente, realizou-se análise espectroscópica para todos os compostos e devido a semelhança dos espectros, será descrito aqui apenas o resultado de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C correspondente aos compostos *exo-endo* (**1d**) (X = 4-CH<sub>3</sub>) e *endo-endo* (**2l**) (X = 4-F).

A Figura 7 mostra o espectro de RMN <sup>1</sup>H para o composto *exo-endo* (**1d**), onde se pode observar:

a) dois dubletos em  $\delta$  1,20 e 1,82, correspondentes aos hidrogênios ligados ao carbono **11** (CH<sub>2</sub> da ponte), os quais acoplam entre si, com uma constante de acoplamento (*J*) em torno de 10,0 Hz;

b) dois singletos em  $\delta$  2,38 e 2,45, atribuídos aos hidrogênios dos grupos CH<sub>3</sub> ligados em cada um dos anéis aromáticos;

c) um singleto em  $\delta$  3,03, correspondente aos hidrogênios dos carbonos **8** e **10**, os quais não acoplam com os hidrogênios dos carbonos **1** e **7** devido ao ângulo diédrico entre eles ser aproximadamente  $90^\circ$ ;

d) um singleto alargado em  $\delta$  3,09, atribuído aos hidrogênios ligados aos carbonos **1** e **7**, os quais acoplam com os hidrogênios ligados aos carbonos **11**, **2** e **6**, cujas constantes de acoplamento não foram calculadas devido a baixa resolução do espectro;

e) um dubleto em  $\delta$  3,28, correspondente aos hidrogênios dos carbonos **2** e **6**, que acoplam com os hidrogênios dos carbonos **1** e **7**.

f) Por último dois dubletos, em  $\delta$  7,00 e 7,27 ( $J = 8,10$  Hz), e em  $\delta$  7,34 e 7,77 ( $J = 8,00$  Hz), correspondentes aos dois anéis benzênicos *p*-substituídos.

A Figura 8 mostra o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  para o composto *exo-endo* (**1d**), onde se pode observar os seguintes sinais:

a) em  $\delta$  21,19 e 21,61, correspondente aos carbonos dos grupos metilas ligados um em cada anel aromático;

b) em  $\delta$  31,49, atribuído ao carbono **11**,  $\text{CH}_2$  da ponte;

c) em  $\delta$  37,33, correspondente aos carbonos **1** e **7** os quais são equivalentes entre si devido a simetria da molécula;

d) em  $\delta$  38,67, correspondente aos carbonos **8** e **10** também equivalentes entre si;

*Figura 7 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto exo-endo aziridina (1d) X = 4-CH<sub>3</sub>.*

*Figura 8 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto exo-endo aziridina (1d)  $\text{X} = 4\text{-CH}_3$ .*

e) em  $\delta$  47,08, correspondente aos carbonos **2** e **6** também equivalentes;

f) em  $\delta$  126,44; 127,95; 128,69; 129,78; 130,00; 134,24; 139,19 e 144,85 atribuídos aos carbonos dos anéis aromáticos.

g) em  $\delta$  175,40, devido as carbonilas **3** e **5**, também equivalentes.

A Figura 9 mostra, o espectro de RMN  $^1\text{H}$  para a aziridina *endo-endo* (**2I**), onde se pode observar:

a) um dubleto em  $\delta$  1,93, correspondente a um dos hidrogênios ligados ao carbono **11** ( $\text{CH}_2$  da ponte) com uma constante de acoplamento ( $J$ ) em torno de 10,0 Hz. O outro dubleto correspondente ao outro hidrogênio do carbono **11** ficou sobreposto com o singleto correspondente a metila ligada em um dos anéis aromáticos e por isso observou-se um sinal múltiplo em  $\delta$  2,34. É importante notar que um dos dubletos encontrou-se em  $\delta$  1,93, valor muito próximo de um dos dubletos do composto *exo-endo* ( $\delta$  1,82). Acredita-se que estes dubletos em ambos os compostos correspondam aos hidrogênios voltados para a parte do anel imídico da molécula (hidrogênio **11a** na Figura 9). Já os outros dois dubletos absorveram em regiões bastante distintas do espectro ( $\delta$  1,20 para o composto *exo-endo* e  $\delta$  2,34 para o composto *endo-endo*). Neste caso acredita-se que o hidrogênio no composto *exo-endo* esteja sofrendo um efeito de campo proporcionado pelo grupo sulfonila, efeito este de blindagem e que o hidrogênio do composto *endo-endo* não está sujeito devido à conformação da molécula. Essas características desses sinais fazem parte de uma das principais diferenças entre os estereoisômeros *exo-endo* e *endo-endo*;

b) um singleto alargado na base em  $\delta$  2,33, correspondente aos hidrogênios do grupo  $\text{CH}_3$  ligado no anel aromático, o qual encobre o dubleto devido a um dos hidrogênios do  $\text{CH}_2$  da ponte. Este dubleto, do  $\text{CH}_2$  da ponte, apareceu encoberto em todos os espectros das aziridinas *endo-endo*. Somente foi possível deduzir sua existência através do espectro em duas dimensões (COSY);

c) um singleto alargado em  $\delta$  3,09, correspondente aos hidrogênios ligados aos carbonos **1** e **7**, os quais acoplam com os hidrogênios ligados aos carbonos **11**, **2 e 6** e neste caso também com os hidrogênios dos carbonos **8** e **10**, o que difere substancialmente do estereoisômero anteriormente descrito, o *exo-endo*;

d) um dubleto em  $\delta$  3,23, atribuído aos hidrogênios dos carbonos **8** e **10**, os quais acoplam com os hidrogênios dos carbonos **1** e **7** e em menor extensão com os hidrogênios dos carbonos **2 e 6**, devido a estes se encontrarem em forma de W. Este sinal corresponde a principal principal diferença entre os estereoisômeros, pois é observado em campo relativamente mais baixo, aparecendo após o sinal referente aos hidrogênios dos carbonos **1** e **7**. Além disso, apresenta um acoplamento significativo com os hidrogênios dos carbonos **1** e **7**, devido ao ângulo diédrico, neste caso, estar mais próximo de 0 do que 90°.

e) um singleto em  $\delta$  3,56, correspondente aos hidrogênios dos carbonos **2 e 6**, os quais, conseqüentemente acoplam com os hidrogênios dos carbonos **1**, **7**, **8** e **10**. Estes hidrogênios encontram-se relativamente mais desblindados devido ao efeito anisotrópico proporcionado pelas carbonilas.

f) Observa-se ainda um grupo de picos entre  $\delta$  7,05 e 7,59, correspondentes aos hidrogênios dos anéis benzênicos.

A Figura 10 mostra o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  para o composto *endo*-**(2I)**, onde se pode observar os seguintes sinais:

- a) em  $\delta$  22,31, correspondente aos carbonos dos grupos metilas ligados um em cada anel aromático;
- b) em  $\delta$  40,76, atribuído ao carbono **11**,  $\text{CH}_2$  da ponte;
- c) em  $\delta$  48,73, correspondente aos carbonos **1** e **7** os quais são equivalentes entre si devido a simetria da molécula;
- d) em  $\delta$  50,38, devido aos carbonos **8** e **10** também equivalentes entre si;
- e) em  $\delta$  55,95, correspondente aos carbonos **2** e **6** também equivalentes;
- f) em  $\delta$  115,99; 116,44; 128,54; 128,71; 129,05; 130,15; 133,29; 145,80 e 164,73, atribuídos aos carbonos dos anéis aromáticos.
- g) em  $\delta$  175,74, correspondente as carbonilas **3** e **5**, também equivalentes.

Realizou-se uma análise espectroscópica de RMN  $^1\text{H}$  em duas dimensões (COSY) para os compostos **(1b)** e **(2b)** X = 4-Cl, a qual contribuiu para a caracterização das estruturas e a confirmação dos acoplamentos.

*Figura 9 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto endo-endo aziridina (2I) X = 4-F.*



*Figura 10 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto endo-endo aziridina (2I) X = 4-F.*

A Figura 11 mostra o espectro (COSY) da aziridina *exo-endo* (1b) X = 4-Cl, onde se observa que dentre o grupo de três sinais entre  $\delta$  2,5 e 3,5, o primeiro, da direita para a esquerda, mostra que os hidrogênios correspondentes a ele não apresentam nenhum acoplamento e sendo assim o mesmo foi atribuído aos hidrogênios dos carbonos **8** e **10**. O segundo sinal mostra que seus hidrogênios acoplam com os hidrogênios responsáveis pelo terceiro sinal e com os hidrogênios do carbono **11** (os dois dubletos em  $\delta$  1,2 e 1,9), e por isso este sinal foi atribuído aos hidrogênios dos carbonos **1** e **7**.

Por último, os hidrogênios, responsáveis pelo terceiro sinal, conseqüentemente acoplam com os hidrogênios responsáveis pelo segundo e pelo fato desse sinal se encontrar em campo relativamente mais baixo do que os outros em ambos os espectros, este foi atribuído aos hidrogênios dos carbonos **2** e **6**. Acredita-se que estes hidrogênios estejam sendo desblindados pelo efeito anisotrópico proporcionado pelas carbonilas.

A Figura 12 mostra o espectro (COSY) da aziridina *endo-endo* (2b) X = 4-Cl, onde se observa que dentre o grupo de três sinais entre  $\delta$  3,0 e 4,0, neste caso, diferente do anteriormente descrito, os hidrogênios responsáveis pelo primeiro sinal (da direita para esquerda), um singlete alargado, acoplam com os hidrogênios responsáveis pelos outros dois sinais nesta região e também com os hidrogênios do carbono **11** (os dois dubletos em  $\delta$  1,93 e 2,32). Sendo assim este sinal foi atribuído aos hidrogênios dos carbonos **1** e **7**. Os hidrogênios responsáveis pelo segundo sinal acoplam conseqüentemente com os do primeiro e em menor extensão com os do terceiro e por isso ele foi atribuído aos hidrogênios dos carbonos **8** e **10**.

*Figura 11 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  em duas dimensões (COSY) do composto exo-endo aziridina (1b) X = 4-Cl.*

*Figura 12 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  em duas dimensões (COSY) do composto endo-endo aziridina (2b) X = 4-Cl.*

Por último os hidrogênios responsáveis pelo terceiro sinal conseqüentemente acoplam com os hidrogênios responsáveis pelo segundo sinal e mais fortemente com os hidrogênios do primeiro. Neste caso também se acredita que este sinal corresponde aos hidrogênios dos carbonos **2** e **6** devido ao efeito anisotrópico das carbonilas.

Realizou-se para o composto *exo-endo* aziridina (**1a**), X = H, uma análise de RMN  $^{13}\text{C}$  DEPT (Acoplamento distorcido por transferência de polarização) 90 e 135 ° com o objetivo de atribuir os sinais de forma correta.

A Figura 13 mostra o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  normal para o composto. A Figura 14 mostra o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 90°, no qual aparecem somente os carbonos terciários. Sendo assim os sinais que se encontram em  $\delta$  37,98; 39,39 e 47,78 correspondem aos carbonos **1**, **2**, **6**, **7**, **8** e **10**.

A Figura 15 mostra o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135°, no qual os carbonos secundários aparecem voltados para a parte de baixo do espectro. Desta forma, conclui-se que, o sinal em  $\delta$  32,25 corresponde ao carbono **11** (grupo  $\text{CH}_2$  da ponte). Por eliminação e pelo valor do deslocamento químico, deduz-se que o sinal em  $\delta$  22,35 corresponde ao grupo metila ligado ao anel benzênico.

*Figura 13 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto exo-endo aziridina (1a) X = H.*

*Figura 14 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DEPT 90°) do composto exo-endo aziridina (1a) X = H.*

*Figura 15 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DEPT 135 $^{\circ}$ ) do composto exo-endo aziridina (1a) X = H.*



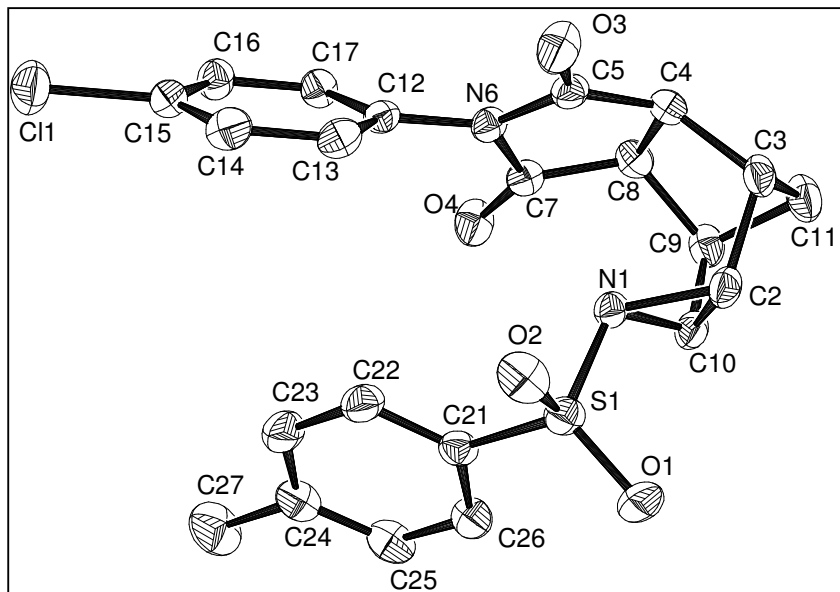
**Figura 16a – Estrutura da aziridina exdo-endo (1c), obtida através de análise cristalográfica (X = 3,4-diCl).**

**TABELA 12a – DADOS CRISTALOGRAFICOS DA AZIRIDINA (1c).**

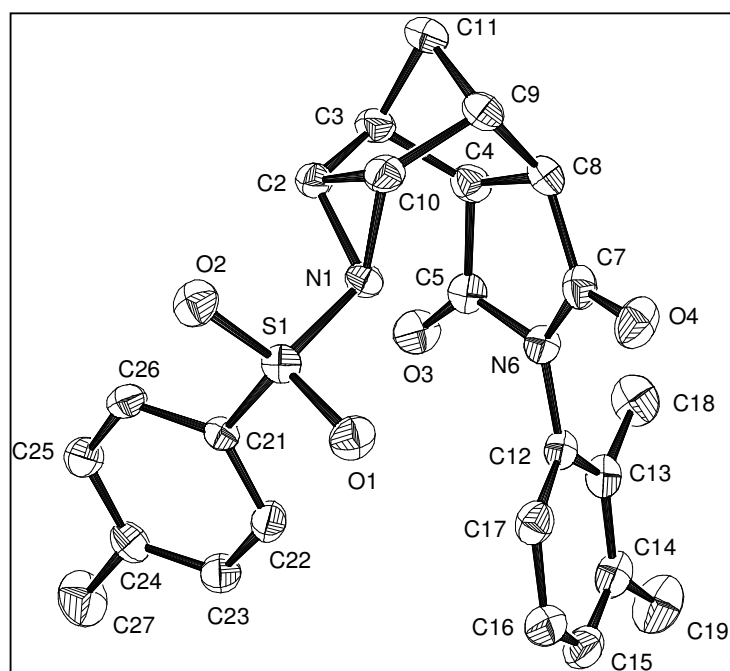
Fórmula	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S
Massa molecular	477,34
Temperatura	293(2) K
Comprimento de onda	0,71069 Å
Sistema cristalino	Monoclinic, P2 <sub>1</sub> /c
Parâmetros de cela	a = 12,856 (1) Å b = 15,689 (1) Å β = 100,27(1)° c = 10,727 (1) Å
Volume	2128,9(3) Å <sup>3</sup>
Z, Densidade calculada	4, 1,489 g/cm <sup>3</sup>
Coeficiente de Absorção	0,436 mm <sup>-1</sup>
F(000)	984
Tamanho do cristal	0,50 x 0,40 x 0,10 mm
Intervalo de θ (coleta)	1,61 a 25,07°
Intervalos de coleta hkl	-15 ≤ h ≤ 0, 0 ≤ k ≤ 18, -12 ≤ l ≤ 12
Reflexões coletadas / únicas	3962 / 3785 [R(int) = 0,0302]
Correção por absorção	None
Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Dados / restrições / parâmetros	3785 / 0 / 291
Goodness-of-fit em F <sup>2</sup>	1,026
Índices finais R [I>2σ(I)]	R <sub>1</sub> = 0,0504, wR <sub>2</sub> = 0,1199
Índices R (todos os dados)	R <sub>1</sub> = 0,1190, wR <sub>2</sub> = 0,1414
Pico máximo e mínimo	0,527 e -0,460 e.Å <sup>-3</sup>

Os somatórios, em módulo, das diferenças, de uma forma geral, foram menores entre os valores calculados pelo método *ab initio* para a estrutura *exo-endo* e maiores para as estruturas *endo-endo*, quando comparados com as diferenças entre os valores obtidos através do método semi-empírico. Ou seja, existe uma maior semelhança entre a estrutura *exo-endo*, obtida através de raio-X e a estrutura obtida por cálculo *ab initio*. Por outro lado as estruturas *endo-endo*

obtidas por difração de raios-X são mais semelhantes as estruturas obtidas pelo método semi-empírico.



**Figura 16b** – Estrutura da aziridina endo-endo (2b), obtida através de análise cristalográfica (X = 4-Cl).



**Figura 16c** – Estrutura da aziridina endo-endo (2m), obtida através de análise cristalográfica (X = 2,3-dimetil).

**TABELA 12b – DADOS CRISTALOGRAFICOS DA AZIRIDINA (2b).**

Fórmula	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S
Massa molecular	442,90
Temperatura	293(2) K
Comprimento de onda	0,71069 Å
Sistema cristalino	Triclinic, P-1
Parâmetros de cela	a = 8,975 (2) Å   α = 105,06(2)° b = 10,167 (5) Å   β = 109,89(2)° c = 12,876 (1) Å   γ = 100,97(3)°
Volume	1015,4 (6) Å <sup>3</sup>
Z, Densidade calculada	2, 1,449 g/cm <sup>3</sup>
Coeficiente de Absorção	0,324 mm <sup>-1</sup>
F(000)	460
Tamanho do cristal	0,43 x 0,40 x 0,36 mm
Intervalo de θ (coleta)	1,80 a 25,47°
Intervalos de coleta hkl	-10 ≤ h ≤ 10, -11 ≤ k ≤ 12, -15 ≤ l ≤ 0
Reflexões coletadas / únicas	3941 / 3764 [R(int) = 0,0127]
Correção por absorção	None
Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Dados / restrições / parâmetros	3764 / 0 / 272
Goodness-of-fit em F <sup>2</sup>	1,035
Índices finais R [I>2σ(I)]	R <sub>1</sub> = 0,0355, wR <sub>2</sub> = 0,0909
Índices R (todos os dados)	R <sub>1</sub> = 0,0495, wR <sub>2</sub> = 0,0970
Pico máximo e mínimo	0,245 e -0,259 e.Å <sup>-3</sup>

Nas Tabelas 14a, 14b e 14c encontram-se os valores dos ângulos entre as ligações, neste caso também obtidos através da análise cristalográfica, calculados através do método semi-empírico AM1 e através de cálculo *ab initio* HF/6-31G<sup>\*\*</sup>.

A comparação desses resultados mostra que as diferenças, dos valores obtidos por análise cristalográfica, são pequenas quando comparadas

com os valores obtidos por método semi-empírico e também quando comparadas com os valores obtidos por método *ab initio*. Essas pequenas diferenças entre as estruturas calculadas e as estruturas obtidas por análise cristalográfica podem estar relacionadas com o fato de que a molécula numa estrutura cristalina é diferente do conformero de menor energia calculado, que considera a molécula livre no vácuo.

**TABELA 12c – DADOS CRISTALOGRAFICOS DA AZIRIDINA (2m).**

Fórmula	C <sub>24</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S
Massa molecular	436,51 g/mol
Temperatura	293(2) K
Comprimento de onda	0,71073 Å
Sistema cristalino	Monoclinic, P2 <sub>1</sub> /n
Parâmetros de cela	a = 10,3681 (6) Å b = 19,1296 (13) Å β = 110,995 (7)° c = 11,7997 (14) Å
Volume	2185,0(3) Å <sup>3</sup>
Z, Densidade calculada	4, 1,327 g/cm <sup>3</sup>
Coeficiente de Absorção	0,182 mm <sup>-1</sup>
F(000)	920
Tamanho do cristal	0,50 x 0,23 x 0,16 mm
Intervalo de θ (coleta)	2,13 a 25,08°
Intervalos de coleta hkl	-11 ≤ h ≤ 12, -22 ≤ k ≤ 0, -14 ≤ l ≤ 0
Reflexões coletadas / únicas	4027 / 3833 [R(int) = 0,0253]
Correção por absorção	None
Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Dados / restrições / parâmetros	3833 / 0 / 280
Goodness-of-fit em F <sup>2</sup>	1,017
Índices finais R [I>2σ(I)]	R <sub>1</sub> = 0,0431, wR <sub>2</sub> = 0,1015
Índices R (todos os dados)	R <sub>1</sub> = 0,0934, wR <sub>2</sub> = 0,1164
Pico máximo e mínimo	0,248 e -0,303 e.Å <sup>-3</sup>

**TABELA 13a – COMPRIMENTOS DE LIGAÇÕES DA AZIRIDINA (1c).**

Ligação	Comprimento (Å)				
	Raio-X	AM1	Diferença	HF/6-31G <sup>**</sup>	Diferença
N(1)-S(1)	1,660 (3)	1,643	0,017	1,666	- 0,006
C(2)-C(10)	1,479 (4)	1,537	- 0,058	1,474	0,005
C(2)-C(3)	1,527 (4)	1,534	- 0,007	1,528	- 0,001
C(3)-C(11)	1,538 (5)	1,548	- 0,010	1,541	- 0,003
C(3)-C(4)	1,549 (4)	1,544	0,005	1,556	- 0,007
C(4)-C(5)	1,506 (5)	1,516	0,010	1,514	- 0,008
C(4)-C(8)	1,549 (4)	1,546	- 0,003	1,547	0,002
C(5)-N(6)	1,401 (4)	1,353	0,048	1,392	- 0,009
N(6)-C(7)	1,402 (4)	1,353	0,049	1,390	0,012
N(6)-C(12)	1,431 (4)	1,377	0,054	1,427	0,004
C(7)-C(8)	1,507 (5)	1,516	- 0,009	1,515	- 0,008
C(8)-C(9)	1,554 (4)	1,550	0,004	1,556	- 0,002
C(9)-C(10)	1,519 (4)	1,534	- 0,015	1,526	- 0,007
C(9)-C(11)	1,532 (5)	1,549	- 0,017	1,541	- 0,009
<b>Somatório das diferenças</b>			0,311	-	0,083

**TABELA 13b – COMPRIMENTOS DE LIGAÇÕES DA AZIRIDINA (2b).**

Ligação	Comprimento (Å)				
	Raio-X	AM1	Diferença	HF/6-31G <sup>**</sup>	Diferença
N(1)-S(1)	1,4325 (16)	1,432	0,0005	1,478	- 0,0455
C(2)-C(10)	1,4333 (15)	1,433	0,0003	1,468	- 0,0347
C(2)-C(3)	1,6688 (15)	1,643	0,0258	1,537	0,1318
C(3)-C(11)	1,759 (2)	1,783	- 0,024	1,553	0,206
C(3)-C(4)	1,737 (2)	1,736	0,001	1,543	0,194
C(4)-C(5)	1,499 (2)	1,468	0,031	1,514	- 0,015
C(4)-C(8)	1,500 (2)	1,463	0,037	1,539	- 0,039
C(5)-N(6)	1,483 (3)	1,543	- 0,06	1,392	0,091
N(6)-C(7)	1,526 (3)	1,536	- 0,01	1,392	0,134
N(6)-C(12)	1,546 (3)	1,540	0,006	1,427	0,119
C(7)-C(8)	1,550 (3)	1,550	0,00	1,515	0,035
C(8)-C(9)	1,500 (3)	1,513	- 0,013	1,548	- 0,048
<b>Somatório das diferenças</b>			0,216	-	1,093

**TABELA 13c – COMPRIMENTOS DE LIGAÇÕES DA AZIRIDINA (2m).**

Ligação	Comprimento (Å)				
	Raio-X	AM1	Diferença	HF/6-31G <sup>**</sup>	Diferença
S(1)-O(1)	1,4301 (18)	1,432	- 0,0019	1,479	- 0,0489
S(1)-O(2)	1,4339 (18)	1,433	0,0009	1,468	- 0,0341
S(1)-N(1)	1,679 (2)	1,644	0,035	1,538	0,141
S(1)-C(21)	1,758 (2)	1,782	- 0,024	1,554	0,204
N(1)-C(2)	1,486 (3)	1,467	0,019	1,543	- 0,057
N(1)-C(10)	1,502 (3)	1,464	0,038	1,514	- 0,012
C(2)-C(10)	1,481 (3)	1,544	- 0,063	1,539	- 0,058
C(3)-C(11)	1,559 (4)	1,551	0,008	1,391	0,168
C(4)-C(5)	1,502 (4)	1,512	- 0,01	1,391	0,111
N(6)-C(7)	1,397 (3)	1,355	0,042	1,433	- 0,036
N(6)-C(12)	1,433 (3)	1,375	0,058	1,516	- 0,083
C(9)-C(11)	1,546 (4)	1,550	- 0,004	1,547	- 0,001
<b>Somatório das diferenças</b>			0,304	-	0,954



**TABELA 14a – ÂNGULO DE LIGAÇÕES DA AZIRIDINA (1c) (X = 3,4-diCl).**

Ligação	Ângulo (°)				
	Raio-X	AM1	Diferença	HF/6-31G**	Diferença
C(10)-N(1)-C(2)	59,38 (19)	63,1	- 3,72	60,68	- 1,30
C(10)-N(1)-S(1)	116,8 (2)	121,3	- 4,50	117,97	- 1,17
C(2)-N(1)-S(1)	113,7 (2)	121,0	- 7,30	117,10	- 3,40
C(10)-C(2)-N(1)	60,17 (19)	58,4	1,77	60,68	- 0,51
C(10)-C(2)-C(3)	104,8 (3)	103,0	1,80	105,22	- 0,42
C(2)-C(3)-C(11)	102,6 (3)	104,2	- 1,60	102,36	0,24
C(2)-C(3)-C(4)	104,4 (2)	109,7	- 5,30	105,74	- 1,34
C(11)-C(3)-C(4)	99,9 (3)	99,6	0,30	99,10	0,80
C(5)-C(4)-C(8)	105,1 (3)	102,4	2,70	105,00	0,10
C(3)-C(4)-C(8)	103,6 (2)	102,8	0,80	103,48	0,12
C(11)-C(9)-C(8)	99,0 (3)	95,5	3,50	99,55	- 0,55
C(2)-C(10)-N(1)	60,46 (18)	58,5	1,96	60,24	0,22
C(9)-C(11)-C(3)	95,2 (2)	92,2	3,00	95,21	- 0,01
O(1)-S(1)-O(2)	117,20 (18)	115,0	2,20	119,67	- 2,47
O(1)-S(1)-N(1)	105,63 (15)	107,5	- 1,87	109,73	- 4,10
O(2)-S(1)-N(1)	112,46 (15)	110,0	2,46	106,22	6,24
<b>Somatório das diferenças</b>			44,78	-	34,69

**TABELA 14b – ÂNGULO DE LIGAÇÕES DA AZIRIDINA (2b) (X = 4-Cl).**

Ligação	Ângulo (°)				
	Raio-X	AM1	Diferença	HF/6-31G**	Diferença
O(2)-S(1)-O(1)	118,65 (10)	115,3	3,35	119,69	- 1,04
O(2)-S(1)-N(1)	105,19 (8)	106,7	- 1,51	105,84	- 0,65
O(1)-S(1)-N(1)	111,41 (9)	110,0	1,41	108,92	2,49
O(2)-S(1)-C(21)	108,84 (9)	108,4	0,44	108,39	0,45
O(1)-S(1)-C(21)	109,12 (10)	107,4	1,72	110,31	- 1,19
N(1)-S(1)-C(21)	102,36 (8)	108,9	- 6,54	102,26	0,10
C(10)-N(1)-C(2)	59,27 (11)	63,5	- 4,23	60,26	- 0,99
C(10)-N(1)-S(1)	116,26 (11)	120,7	- 4,44	118,12	- 1,86
C(2)-N(1)-S(1)	113,06 (11)	121,6	- 8,54	116,38	- 3,32
C(10)-C(2)-N(1)	60,33 (11)	58,1	2,23	60,24	0,09
C(10)-C(2)-C(3)	105,41 (16)	102,6	2,81	105,36	0,05
C(2)-C(3)-C(11)	98,77 (16)	101,0	- 2,23	98,77	0,00
C(4)-C(3)-C(11)	98,48 (16)	99,4	- 0,92	98,82	- 0,34
O(3)-C(5)-N(6)	124,21 (17)	125,6	- 1,39	125,46	- 1,25
O(3)-C(5)-C(4)	127,44 (16)	121,4	6,04	126,63	0,81
C(10)-C(9)-C(11)	98,94 (16)	99,9	- 0,96	98,57	0,37
<b>Somatório das diferenças</b>			48,76	-	15,00

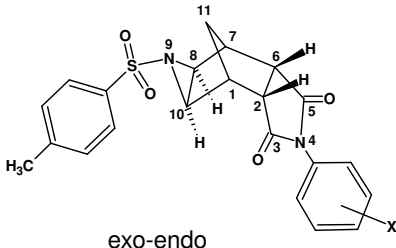
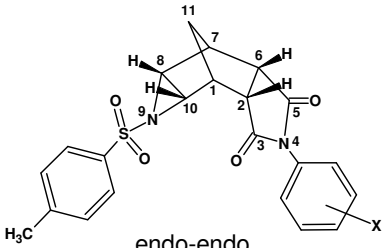
**TABELA 14c – ÂNGULO DE LIGAÇÕES DA AZIRIDINA (2m) (X = 2,3-DIMETIL).**

Ligação	Ângulo (°)				
	Raio-X	AM1	Diferença	HF/6-31G**	Diferença
O(2)-S(1)-O(1)	118,79 (11)	115,0	3,79	119,60	- 0,81
O(2)-S(1)-N(1)	105,08 (11)	106,9	- 1,82	106,08	- 1,00
O(1)-S(1)-N(1)	110,93 (11)	110,0	0,93	108,90	2,03
O(2)-S(1)-C(21)	109,58 (11)	108,3	1,28	110,40	- 0,82
O(1)-S(1)-C(21)	108,00 (11)	107,2	0,80	108,41	- 0,41
N(1)-S(1)-C(21)	103,38 (11)	109,3	- 5,92	101,99	1,39
C(10)-N(1)-C(2)	59,43 (15)	63,6	- 4,17	60,23	- 0,80
C(10)-N(1)-S(1)	114,78 (16)	121,0	- 6,22	117,41	- 2,63
C(2)-N(1)-S(1)	112,41 (16)	120,4	- 7,99	116,38	- 3,97
C(10)-C(2)-N(1)	60,82 (15)	58,3	2,52	60,26	0,56
C(10)-C(2)-C(3)	98,8 (2)	100,8	- 2,00	105,31	- 6,51
C(2)-C(3)-C(11)	99,0 (2)	99,4	- 0,40	98,71	0,29
C(4)-C(3)-C(11)	111,7 (2)	108,9	2,80	98,82	12,88
O(3)-C(5)-N(6)	123,9 (2)	126,1	- 2,20	125,61	- 1,71
O(3)-C(5)-C(4)	122,7 (2)	125,0	- 2,30	126,51	- 3,81
C(10)-C(9)-C(11)	93,9 (2)	92,3	1,60	98,49	- 4,59
<b>Somatório das diferenças</b>			46,74	-	44,21

Realizou-se uma análise de RMN  $^1\text{H}$  do produto bruto para as aziridinas *exo-endo* e *endo-endo* (**1g** e **2g**, X = 4-NO<sub>2</sub>), (**1h** e **2h**, X = 4-OH), (**1i** e **2i**, X = 3-etil), (**1j** e **2j**, X = 3-NO<sub>2</sub>), (**1l** e **2l**, X = 4-F) e (**1m** e **2m**, X = 2,3-dimetil) com o objetivo de quantificar a razão entre os estereoisômeros.

Calculou-se a porcentagem de cada estereoisômero pela integração relativa dos sinais correspondentes aos hidrogênios **2** e **6** (em torno de  $\delta$  3,29 para os estereoisômeros *exo-endo* e em  $\delta$  3,56 para os estereoisômeros *endo-endo*) e também para os sinais correspondentes aos hidrogênios **8** e **10** (em torno de  $\delta$  3,05 para os estereoisômeros *exo-endo* e em  $\delta$  3,24 para os estereoisômeros *endo-endo*). Os resultados destes cálculos encontram-se resumidos na Tabela 15.

**TABELA 15 – RAZÃO ENTRE OS ESTEREOISÔMEROS FORMADOS**

<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>exo-endo</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>endo-endo</p> </div> </div>		
Substituinte X	<i>exo, endo</i> (%)	<i>endo, endo</i> (%)
4-NO <sub>2</sub>	20 ( <b>1g</b> )	80 ( <b>2g</b> )
4-OH	45 ( <b>1h</b> )	55 ( <b>2h</b> )
3-etil	40 ( <b>1i</b> )	60 ( <b>2i</b> )
3-NO <sub>2</sub>	30 ( <b>1j</b> )	70 ( <b>2j</b> )
4-F	40 ( <b>1l</b> )	60 ( <b>2l</b> )
2,3-dimetil	40 ( <b>1m</b> )	60 ( <b>2m</b> )

Os resultados obtidos com as aziridinas sintetizadas neste trabalho estão condizentes com os encontrados na literatura para estruturas relacionadas (Hale et al., 1969; Oehlschlager et al., 1969), (estruturas **5** e **6**, item **1.1**). Na reação de benzenossulfonilazidas, com *cis-endo* ou *cis-exo* anidrido norborneno-5,6-dicarboxílico, os autores obtiveram *exo* e *endo* aziridinas, onde o isômero *endo* também foi obtido em maior proporção (aproximadamente na proporção de 70 : 30 %).

## 4.2 DETERMINAÇÃO DOS $pK_a(s)$

### 4.2.1 DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL ATRAVÉS DO MÉTODO POTENCIOMÉTRICO

Os  $pK_a(s)$  de treze aziridinas com estereoquímica *endo-endo* e dez *exo-endo*, da série sintetizada, foram obtidos através do método potenciométrico e os resultados encontram-se resumidos na Tabela 16.

Para alguns compostos não foi possível determinar o  $pK_a$  devido a característica hidrofóbica dos mesmos. Somente numa mistura de dioxano-água na proporção de 1 : 1 foi possível a realização do experimento e mesmo assim os derivados (**1e**) e (**2e**) precipitaram nesse meio inviabilizando a determinação de seus  $pK_a(s)$ .

Inicialmente realizou-se a determinação dos valores de  $pK_a(s)$  acreditando-se que o efeito eletrônico dos substituintes ligados ao anel imídico poderia ser transmitido ao N-azidínico (teoricamente mais básico), influenciando a reação de protonação, através da titulação com HCl. Assim, resolveu-se estudar

esse efeito eletrônico dos substituintes sobre os  $pK_a(s)$  das benzenossulfonilaziridinas e analisar as possíveis correlações entre os valores dos  $pK_a(s)$  contra parâmetros eletrônicos teóricos obtidos por modelagem molecular e teóricos da literatura.

**TABELA 16 – VALORES DOS  $pK_a(s)$ , OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE PARA AS AZIRIDINAS EM SOLUÇÃO DE DIOXANO : ÁGUA<sup>a</sup>**

SUBSTITUINTE		$pK_a$		
X	<i>exo-endo</i>	Estrutura	<i>endo-endo</i>	Estrutura
H	8,02	<b>1a</b>	7,91	<b>2a</b>
4-Cl	7,83	<b>1b</b>	7,35	<b>2b</b>
3,4-diCl	8,72	<b>1c</b>	8,16	<b>2c</b>
4-CH <sub>3</sub>	8.15	<b>1d</b>	7,21	<b>2d</b>
4-Br	7,61	<b>1f</b>	7,94	<b>2f</b>
4-NO <sub>2</sub>	7,50	<b>1g</b>	8,72	<b>2g</b>
4-OH	-	<b>1h</b>	7,53	<b>2h</b>
3-etil	8,25	<b>1i</b>	7.95	<b>2i</b>
3- NO <sub>2</sub>	-	<b>1j</b>	8,65	<b>2j</b>
4-F	7,87	<b>1l</b>	7,89	<b>2l</b>
2,3-dimetil	8.45	<b>1m</b>	7,55	<b>2m</b>
3-OCH <sub>3</sub>	-	<b>1n</b>	7,44	<b>2n</b>
4-COOH	5,12	<b>1o</b>	5,38	<b>2o</b>

<sup>a</sup>Dioxano : água 1 : 1

Posteriormente verificou-se, através do estudo de modelagem molecular, utilizando os métodos semi-empíricos e *ab initio*, que realmente o nitrogênio mais susceptível a reação de protonação é o do anel aziridínico. Como

este nitrogênio, o de número 9 (N-9), encontra-se distante dos substituintes, o mesmo não é afetado de maneira significativa pelo efeito eletrônico desses substituintes. Desta forma os resultados das experiências de potenciometria, culminaram em valores de  $pK_a(s)$  não muito distintos entre si para os compostos estudados, sendo uma exceção somente o composto 4-COOH- substituído. No caso deste derivado, acredita-se que durante a reação de protonação parte do HCl adicionado foi consumido na reprotonação do grupo carbóxi devido a sua constante de dissociação e por isso o erro experimental nesse caso é relativamente grande.

Sendo assim, houve uma preocupação com a validade desses valores de  $pK_a(s)$ , uma vez que, as suas diferenças poderiam estar dentro da margem de erro experimental, não estando assim, relacionadas com a influência dos grupos substituintes.

No entanto, através do estudo de modelagem molecular, conforme mostrado no item **4.8.2.1** deste trabalho, obteve-se uma boa correlação linear (coeficiente de correlação,  $R$ , acima de 0,8) entre os valores de  $pK_a(s)$  com os valores das constantes dos substituintes ( $\sigma$  de Hammet), e com parâmetros eletrônicos teóricos, como densidade do nitrogênio entre outros.

Não foi objetivo deste trabalho determinar valores absolutos de  $pK_a(s)$ , dentro do conceito clássico de reação ácido-base em meio aquoso, mas sim, demonstrar que os  $pK_a(s)$  dos compostos, determinados num sistema organo-aquoso, podem ser utilizados para estudos de modelagem molecular, correlacionando-os com outras propriedades físico-químicas, experimentais ou

teóricas, bem como utilizá-los em estudos de planejamento racional de novos fármacos, através de correlação com resultados de atividade biológicas.

#### 4.2.2 DETERMINAÇÃO TEÓRICA ATRAVÉS DE CÁLCULO *AB INITIO*

Os  $pK_a(s)$  de 7 pares de aziridinas com estereoquímica *exo-endo* e *endo-endo*, da série sintetizada, foram obtidos através de cálculo *ab initio* e os resultados encontram-se resumidos na Tabela 17.

**TABELA 17 – VALORES DOS  $pK_a(s)$ , OBTIDOS ATRAVÉS DE CÁLCULO *AB INITIO* PARA AS AZIRIDINAS EM FASE GASOSA**

SUBSTITUINTE		$pK_a$		
X	<i>exo-endo</i>	Estrutura	<i>endo-endo</i>	Estrutura
H	31,33	<b>1a</b>	27,89	<b>2a</b>
4-Cl	28,14	<b>1b</b>	25,87	<b>2b</b>
3,4-diCl	28,71	<b>1c</b>	24,47	<b>2c</b>
4-CH <sub>3</sub>	31,75	<b>1d</b>	26,40	<b>2d</b>
3-etil	31,10	<b>1i</b>	28,08	<b>2i</b>
4-F	30,43	<b>1l</b>	26,55	<b>2l</b>
2,3-dimetil	31,64	<b>1m</b>	28,65	<b>2m</b>

Inicialmente foram calculadas, através do programa Jaguar, a energia interna (U), a energia do ponto zero (ZPE) e as correções térmicas e entrópicas para as espécies químicas H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, aziridinas não substituídas *exo-endo* (**1a**) e *endo-endo* (**2a**) e também para cada uma das aziridinas protonadas no nitrogênio imídico (N-4) e no nitrogênio aziridínico (N-9).



Conforme descrito na parte experimental foram determinadas as constantes de equilíbrio ( $K_a$ ) levando-se em consideração a reação de equilíbrio de hidrólise do ácido conjugado da aziridina em fase gasosa (Equação 3).



Os valores  $\xrightleftharpoons[K_b]{K_a}$  destas constantes encontram-se resumidos na Tabela 18.

**TABELA 18 – CONSTANTES DE EQUILÍBRIO DA REAÇÃO DE HIDRÓLISE DAS AZIRIDINAS PROTONADAS.**

AZIRIDINA	$K_a$	
	N-4	N-9
<b><i>exo-endo</i> (1a)</b>	$7,96 \times 10^{-9}$	$4,75 \times 10^{-32}$
<b><i>endo-endo</i> (2a)</b>	$7,38 \times 10^{-24}$	$1,28 \times 10^{-28}$

Através destes cálculos observou-se que o ácido conjugado, da aziridina protonada no nitrogênio (N-9), é mais fraco tanto para o composto *exo-endo*, quanto para o *endo-endo*. Os resultados dos cálculos teóricos, através de procedimento *ab initio*, apontam o nitrogênio do anel aziridínico, como sendo o mais básico, o que está de acordo com o esperado.

Em função destes cálculos, optou-se pela determinação teórica do  $pK_a$  de uma série de benzenossulfonilaziridinas, levando-se em consideração o nitrogênio da aziridina como principal sítio ativo na reação de protonação frente ao ácido clorídrico.

O objetivo principal, uma correlação entre os  $pK_a$ (s) teóricos e os  $pK_a$ (s) experimentais, não foi alcançado devido a uma série de fatores.

Por se tratar de uma molécula relativamente complexa, com 50 átomos, não foi possível estabelecer as condições ideais para o experimento. Por exemplo no cálculo das frequências para os compostos (**1b**) e (**2b**) ( $X = 4\text{-Cl}$ ) foram observados valores negativos. Estas frequências imaginárias significam que a estrutura encontrada não é um ponto de mínimo sobre a superfície de energia potencial do sistema.

Apesar da semelhança entre a estrutura calculada e a estrutura determinada através de análise cristalográfica por difração de raios-X (Figuras 27 e 28, item **4.8.2**), os resultados mostram que não foi possível determinar o confômero mais estável através de procedimento *ab initio*.

No caso dos compostos (**1f**) e (**2f**) ( $X = 4\text{-Br}$ ), não foi possível a realização do cálculo por limitações do programa com relação ao átomo de Br.

Outro fator importante, foi o fato dos cálculos teóricos de  $\text{pK}_a(\text{s})$ , terem sido realizados, considerando a reação em fase gasosa, enquanto que, para a determinação dos  $\text{pK}_a(\text{s})$  experimentais, utilizou-se um sistema organo-aquoso, devido a solubilidade dos compostos.

Existe a necessidade de se realizar novos experimentos com relação a determinação dos  $\text{pK}_a(\text{s})$  teóricos, como mudança na base utilizada para os cálculos, escolha de um outro método que possa ser mais adequado, bem como a escolha de palavras chave relacionadas com situações mais específicas para cada situação.

Apesar do insucesso os resultados foram apresentados, neste trabalho, com o intuito de mostrar o que pode ser feito com essa ferramenta tão poderosa para os pesquisadores, que é a química teórica. Com o advento dos

computadores, possibilitando a resolução da equação de Schrödinger, a química sofreu um avanço considerável, mas, no entanto, como em todo experimento, encontrar as condições ideais e corretas, no caso da química teórica, isso também não é tarefa fácil.

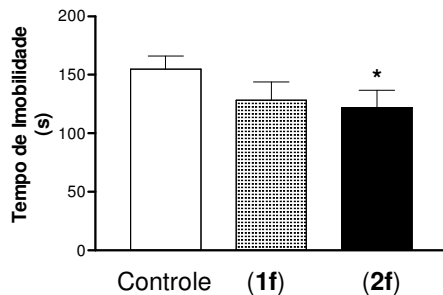
### 4.3 ATIVIDADES BIOLÓGICAS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

#### 4.3.1 TESTE DO DESESPERO COMPORTAMENTAL (TDC)

Inicialmente dois pares de derivados aziridínicos foram submetidos aos testes preliminares, um par com o grupo substituinte doador e outro com grupo retirador de elétrons (**1e** e **2e**, X = 4-OCH<sub>3</sub>) e (**1f** e **2f**, X = 4-Br) respectivamente.

Para os compostos (**1f**), (**2f**), (**1e**) e (**2e**) foram realizados os seguintes testes preliminares: Labirinto em Cruz Elevado (LCE) (5 min), Rota Rod (1 min) e Desespero Comportamental (5 min) na dose de 2,16 µMol/kg em óleo de girassol administrado via i.p., utilizando camundongos.

Os resultados obtidos com os composto *exo-endo* (**1f**) e o *endo-endo* (**2f**) mostraram que apenas o composto (**2f**) foi capaz de reduzir significativamente o tempo de imobilidade dos camundongos avaliados no teste do desespero comportamental, indicando assim uma atividade antidepressiva (Figura 17).



**Figura 17 – Efeito da administração i.p. das aziridinas ( $2,16 \mu\text{Mol/kg}$ ) (1f) e (2f) no tempo de imobilidade no Teste do Desespero Comportamental (TDC).**

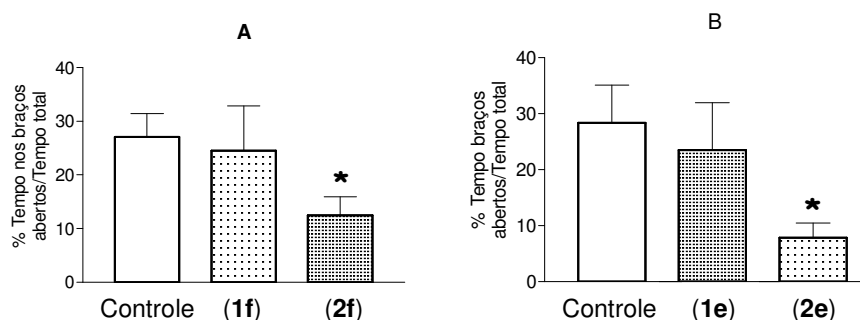
OBS.: Para esta e para todas as outras Figuras desta seção, cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais indicam os E.P.M. ( $n = 9$  em cada grupo. \*  $p < 0,05$  – confiabilidade acima de 95 %; ANOVA univariado seguido do teste de Dunnett).

Face aos resultados promissores obtidos no TDC, resolveu-se testar o potencial ansiolítico dos compostos, pois a ansiedade e a depressão são patologias que possuem substratos neurais e neuroquímicos similares.

#### **4.3.2 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO (LCE)**

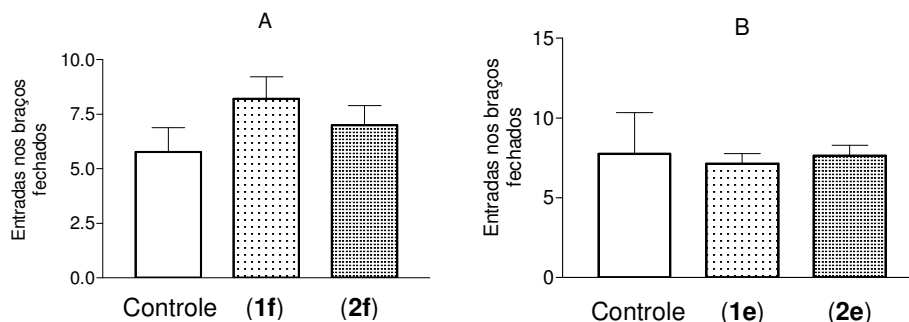
Os resultados mostram que tanto o composto (2f) quanto o (2e) (Figura 18 – A e B) promovem um efeito do tipo ansiogênico no labirinto em cruz elevado, com redução no tempo de permanência nos braços abertos do LCE.

A análise dos resultados sugere que os compostos apresentam um efeito do tipo ansiogênico, efeito esse mais evidente para os compostos (2f) e (2e).



**Figura 18 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (2,16  $\mu$ Mol/kg) dos compostos 1f e 2f (A) e 1e e 2e (B) no tempo despendido nos braços abertos do LCE.**

A Figura 19 mostra que os compostos não alteram significativamente a frequência de entradas nos braços fechados do labirinto em cruz elevado.

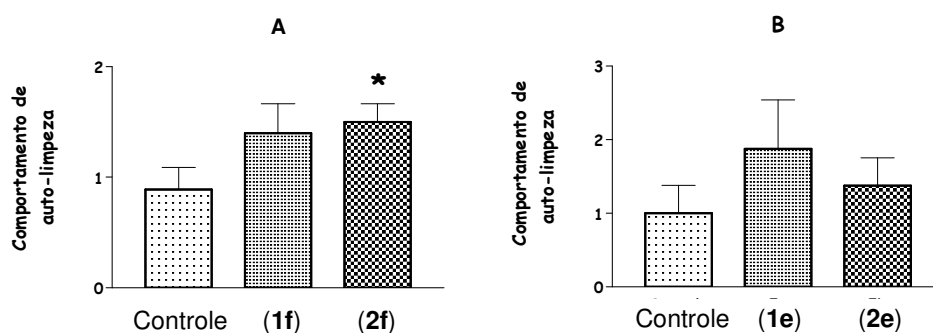


**Figura 19 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (2,16  $\mu$ Mol/kg) (1f), (2f), (A) (1e) e (2e) (B) no número de entradas nos braços fechados do LCE.**

O efeito do tipo ansiogênico dos compostos (2f) e (2e) não parece ser decorrente de alterações na atividade motora dos animais, pois nenhum composto foi capaz de alterar o número de entradas nos braços fechados do LCE (Figura 19).

Apenas o composto (2f) aumenta significativamente o comportamento de autolimpeza dos animais, como pode ser verificado na Figura 20 – A. Esse aumento pode estar relacionado à ansiogênese gerada pelo

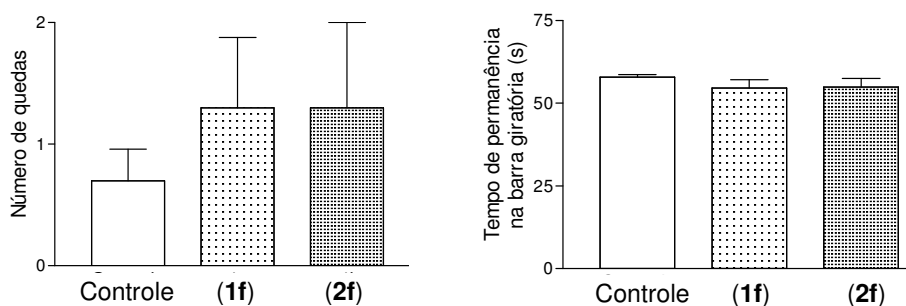
composto, levando a um comportamento dito “deslocado” do repertório comportamental esperado para um animal em situações de medo.



**Figura 20 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (2,16  $\mu\text{Mol/kg}$ ) (1f), (2f), (A) (1e) e (2e) (B) no comportamento de auto-limpeza no LCE.**

#### 4.3.3 TESTE DO ROTA-ROD

Os compostos (1f) e (2f) não alteraram o número de quedas (Figura 21 – A) ou o tempo de permanência (Figura 21 – B) na barra giratória do rota-rod, descartando um efeito sedativo ou relaxante muscular desses compostos que pudessem interferir com outros efeitos farmacológicos observados.

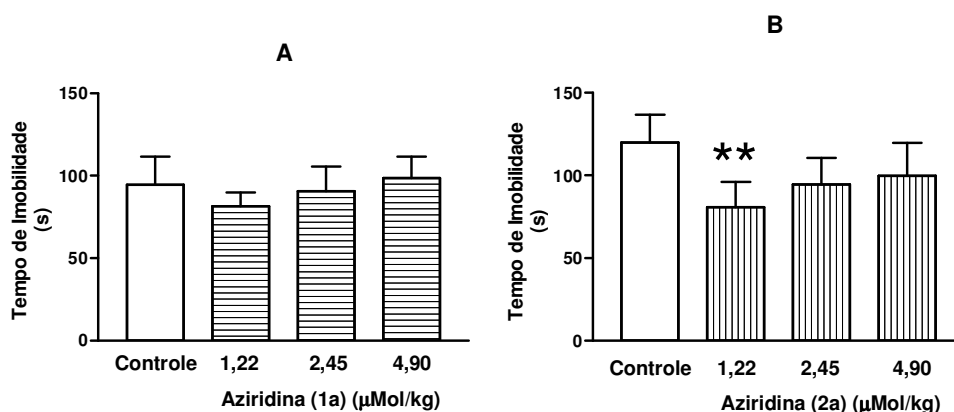


**Figura 21 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (1f) e (2f) (2,16  $\mu\text{Mol/kg}$ ) no número de quedas (A) e o tempo despendido na barra giratória (B) do rota-rod.**

#### 4.3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDEPRESSIVA

Diante dos promissores resultados iniciais, decidiu-se pela realização dos testes do desespero comportamental para avaliar a atividade antidepressiva de uma série de aziridinas com substituintes X = H, 4-Cl, 3,4-Cl<sub>2</sub>, 4-CH<sub>3</sub> e 4-OCH<sub>3</sub>, escolhida com base no Método Manual de Topliss (Topliss, 1977), para um possível estudo de correlação estrutura-atividade.

Apesar de somente o composto *endo-endo* (**2f**) ter apresentado atividade antidepressiva num pré-teste, realizaram-se os referidos testes para os compostos (**1a**) e (**2a**), e mais uma vez somente o composto *endo-endo* (**2a**) apresentou atividade antidepressiva (Figura 22).

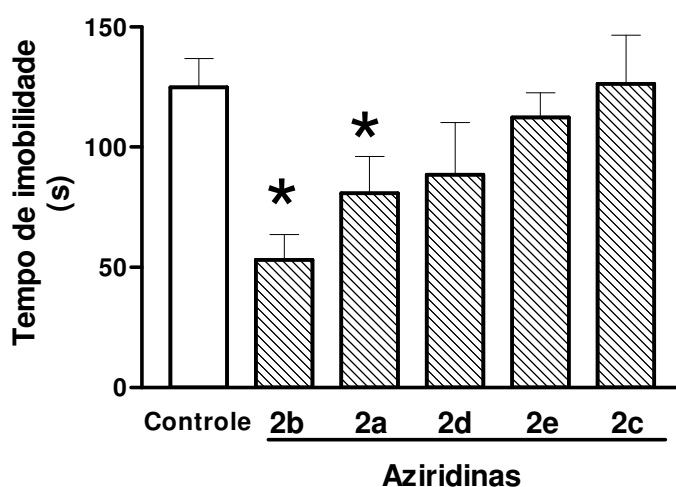


**Figura 22 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (1a) A e (2a) B em camundongos no tempo de imobilização no TDC.**

Então se optou pela avaliação da ação antidepressiva de uma série de aziridinas com estereoquímica *endo-endo*. Os compostos (**2a**), (**2b**), (**2c**), (**2d**) e (**2e**).

Devido às dificuldades de solubilização dos compostos em água e em outros solventes, os mesmos foram diluídos em óleo de girassol e injetados intraperitonealmente nos camundongos.

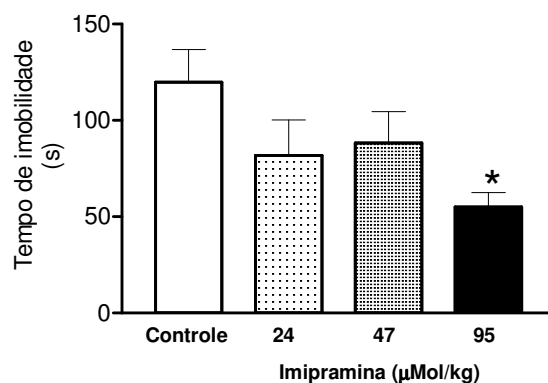
A Figura 23 mostra os resultados dos testes para os compostos da série (2), onde somente dois deles, (2b) e (2a) apresentaram atividade significativa pelo método utilizado.



**Figura 23 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (2,45  $\mu\text{mol/kg}$ ) do grupo 2 (a - e) no tempo de imobilidade no TDC.**

Realizou-se ainda um teste com a Imipramina (antidepressivo bastante conhecido e utilizado na clínica) para efeito de validação do método. A Figura 24 mostra o resultado deste teste onde se nota que a dose utilizada para atingir um resultado significativo é em torno de 40 vezes maior do a dose utilizada com as benzenossulfonilaziridinas.

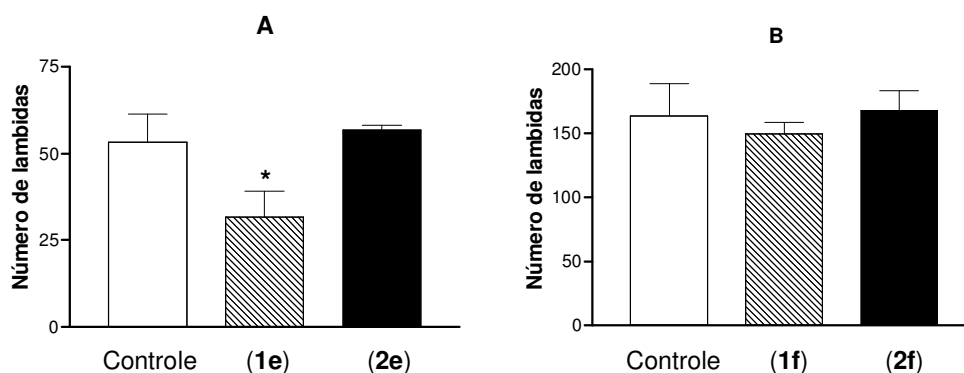




**Figura 24 – Efeito da administração i.p. da imipramina no tempo de imobilidade no TDC.**

#### 4.4 ATIVIDADE ANALGÉSICA

No modelo de dor induzido pela formalina (teste da formalina), os compostos **(1e)**, **(2e)**, **(1f)** e **(2f)** foram testados e apenas composto **(1e)** inibiu a segunda fase da nocicepção (Figura 25).



**Figura 25 – Efeito da administração i.p. das aziridinas (2,16 μMol/kg) dos grupos 4 (A e B) e 5 (A e B) na resposta nociceptiva induzida pela injeção intra-plantar de formalina 2,5%.**

Este modelo permite evidenciar duas fases da sensibilidade dolorosa: a primeira fase aparece nos primeiros 5 min após a injeção de formalina

(dor fásica) e a segunda fase ocorre entre 15 e 30 min após a injeção da formalina, representando a resposta tônica à dor, acompanhada de uma resposta inflamatória relacionada à liberação de mediadores químicos inflamatórios.

Foi realizado apenas um pré-teste para estes dois pares de estereoisômeros, onde foi possível observar que, aparentemente ao contrário do TDC, neste caso somente os compostos com estereoquímica *exo-endo* apresentam atividade analgésica. Devido à dificuldade com a obtenção de animais não foi possível, para a equipe da Coordenadoria Especial de Farmacologia da UFSC, avaliar a promissora atividade analgésica desta classe de compostos.

#### 4.5 ATIVIDADE ANTIBIÓTICA

Uma série de aziridinas com o substituintes X = H (**1a**) e (**2a**), 4-Cl (**1b**) e (**2b**), 3,4-diCl (**1c**) e (**2c**), 4-CH<sub>3</sub> (**1d**) e (**2d**), 4-Br (**2f**), 4-NO<sub>2</sub> (**2g**), 4-OH (**2h**), 3-etil (**1i**) e (**2i**), 3- NO<sub>2</sub> (**2j**), 4-F (**1l**), 2,3-dimetil (**1m**) e (**2m**), 3-OCH<sub>3</sub> (**2n**) e 4-COOH (**1o**) foi testada *in vitro* para avaliar suas possíveis atividades antibióticas e os resultados encontram-se discutidos abaixo.

O composto com estereoquímica *exo-endo* (**1a**) não apresentou atividade inibitória em nenhuma das concentrações testadas. O mesmo ocorreu para os análogos substituídos.

O composto *endo-endo* (**2a**) apresentou halo de inibição para as concentrações de 550 µg mL<sup>-1</sup> e 275 µg mL<sup>-1</sup> frente a *S. aureus*, no entanto, não foi detectada atividade frente a *E. coli* e *P. aeruginosa*. Nos ensaios com os análogos substituídos não foi possível a detecção de atividade inibitória.

Nos ensaios de atividade antifúngica, o composto *exo-endo* (**1a**) e seus análogos substituídos também não apresentaram atividade. O composto *endo-endo* (**2a**) reproduziu o mesmo resultado obtido frente a *S. aureus*, alguma inibição nas concentrações mais elevadas, sendo possível observar crescimento de colônias no interior do halo de inibição. Os análogos substituídos, a semelhança do ensaio bacteriano, também não apresentaram atividade inibitória.

Embora tenha sido possível detectar alguma atividade inibitória nas concentrações mais elevadas do composto *endo-endo* (**2a**) frente a bactéria gram-positiva *S. aureus*, tal atividade foi pouco significativa em relação as concentrações testadas. A atividade observada frente a *Candida albicans* também é pouco satisfatória, uma vez que houve o crescimento de indivíduos resistentes dentro da área do halo de inibição.

Apesar das marcantes diferenças estruturais entre os grupos, a observação de alguma atividade inibitória para bactérias gram-positivas e leveduras, pode ser explicada pelo fato de que, a despeito de serem microrganismos distintos, o comportamento fisiológico no que diz respeito ao transporte transmembrana é mais semelhante entre estas do que nas gram-negativas. Nestas, a presença de uma membrana externa constituída de trímeros proteicos estabelece um significativo limite de exclusão molecular, dificultando a passagem de substâncias para o meio interno. Essa característica contribui de maneira significativa para a elevada resistência, aos antimicrobianos, observada nas espécies de bactérias gram-negativas.

#### 4.6 TOXICIDADE GERAL FRENTE *ARTEMIA SALINA*

O grupo de compostos com estereoquímica *exo-endo* e *endo-endo*, com o substituintes X = H (**1a**) e (**2a**), 4-Cl (**1b**) e (**2b**), 3,4-diCl (**1c**) e (**2c**), 4-CH<sub>3</sub> (**1d**) e (**2d**), 4-OCH<sub>3</sub> (**1e**) e (**2e**), 4-F (**1l**) e (**2l**), 2,3-dimetil (**1m**) e (**2m**) e 4-COOH (**1o**) e (**2o**) foi testado no bioensaio de toxicidade geral frente ao micro-crustáceo *Artemia salina* Leach.

Devido à necessidade da realização do teste com *Artemia* ser em meio aquoso, para alguns compostos não foi possível obter um resultado satisfatório devido à característica hidrofóbica dos mesmos. Tentativas de solubilizar os compostos com PVP não tiveram sucesso, e também com uma razão maior que 1 : 1 de DMSO : água inviabilizaram os testes devido a morte dos animais no controle.

Os estereoisômeros *endo-endo* não substituído (**2a**) e substituído com o grupo 4-Cl (**2b**) apresentaram melhores resultados, com valores de CL<sub>50</sub> = 0,80 µM e CL<sub>50</sub> = 0,92 µM respectivamente, indicando importante atividade citotóxica em potencial, o que nos remeteu a realizar ensaios específicos com cultura de células tumorais.

#### 4.7 ATIVIDADE CITOTÓXICA

A atividade citotóxica foi avaliada frente a células do carcinoma de Ehrlich, *in vitro*, em culturas de 48 h, segundo descrito na parte experimental. Os derivados ensaiados foram: (**1a**) e (**2a**) (X = H); (**1b**) e (**2b**) (X = 4-Cl); (**1c**) e (**2c**)

(X = 3,4-diCl); (**1d**) e (**2d**) (X = 4-CH<sub>3</sub>); (**1e**) e (**2e**) (X = 4-OCH<sub>3</sub>); (**2h**) (X = 4-OH); (**1i**) e (**2i**) (X = 3-etil); (**1l**) e (**2l**) (X = 4-F) e (**1m**) e (**2m**) (X = 2,3-dimetil).

Os resultados obtidos mostraram que apenas um dos derivados ensaiados apresentou atividade inibitória significativa frente as células do carcinoma de Ehrlich, o composto (**1e**) com valor de  $Cl_{50} = 105,62 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Novos ensaios frente a outras linhagens de células tumorais estão sendo programados para os referidos derivados sulfo-aziridínicos.

Na Tabela 19 encontram-se resumidos os resultados das principais atividades biológicas apresentadas pelas benzenossulfonilaziridinas.

**TABELA 19 – ENSAIOS BIOLÓGICOS REALIZADOS COM AS AZIRIDINAS**

Ensaio	Atividade	Composto Ativo	Dose Resposta
TDC	Antidepressiva	( <b>2a</b> ) ( <b>2b</b> ) ( <b>2f</b> )	$2,45 \mu\text{mol kg}^{-1}$
LCE	Ansiogênica	( <b>2e</b> ) ( <b>2f</b> )	$2,16 \mu\text{mol kg}^{-1}$
Formalina	Analgésica	( <b>1e</b> )	$2,16 \mu\text{mol kg}^{-1}$
Difusão em Ágar	Antibiótica	( <b>2a</b> )	$Cl_{50} 275 \mu\text{g mL}^{-1}$
Difusão em Ágar	Antifúngica	( <b>2a</b> )	$Cl_{50} 275 \mu\text{g mL}^{-1}$
Artemia Salina	Toxicidade	( <b>2a</b> ) ( <b>2b</b> )	$CL_{50} 0,8 \mu\text{mol L}^{-1}$
Cultura de Células	Citotoxicidade	( <b>1e</b> )	$Cl_{50} 105,62 \mu\text{mol L}^{-1}$

## 4.8 RELAÇÃO ENTRE ESTRUTURA QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA

### 4.8.1 MÉTODO MANUAL DE TOPLISS

Os cinco substituintes (H, 4-Cl, 3,4-diCl, 4-CH<sub>3</sub> e 4-OCH<sub>3</sub>) fazem parte da primeira série sugerida pelo Método Manual de Topliss, o qual trata-se de um método para o estudo de correlação estrutura-atividade qualitativa (SAR) (Topliss, 1977).

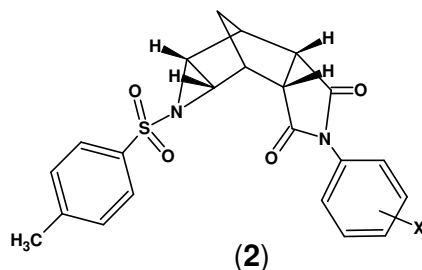
Através do teste do desespero Comportamental (TDC) (Borsini et al., 1989), um modelo utilizado para o estudo da depressão endógena, realizado com camundongos suíços machos, testou-se a série das sulfonilaziridinas com estereoquímica *endo-endo* (**2**) com os substituintes da primeira série do método de Topliss. Constatou-se que os compostos com substituinte H (**2a**) e 4-Cl (**2b**) apresentaram atividade antidepressiva estatisticamente significativa.

Uma vez que somente os compostos aziridínicos (**2a**) e (**2b**) apresentaram atividade antidepressiva significativa, porém não diferindo entre si, eles foram classificados em primeiro e segundo composto mais potente (Tabela 20), para efeito de comparação com a ordem de potência para várias dependências paramétricas, conforme mostra a Tabela 1 (Item **1.3.1**). As outras aziridinas foram classificadas de terceira a quinta colocação.

Embora a ordem de efeito demonstrada pelo grupo inicial de compostos não corresponda exatamente a nenhuma ordem calculada para qualquer parâmetro dado na Tabela 1 (Item **1.3.1**), há indícios da presença de algum efeito estérico desfavorável na posição 4, tendo em vista que o composto (**2a**) X = H, apresenta-se entre os dois mais ativos.

Levando estes dados à Tabela 2 (Item **1.3.1**) obtém-se a sugestão de uma nova série de compostos a ser sintetizada, possivelmente mais potente que a série sintética inicial, cujos substituintes são 3-Cl; 3-CH<sub>3</sub>; 3-OCH<sub>3</sub>; 3-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; 3-CF<sub>3</sub> e 3,5-Cl<sub>2</sub> e levam em consideração o efeito de impedimento estérico provocado pela substituição do anel na posição 4 (*E*<sub>4</sub>).

**TABELA 20 – ATIVIDADE ANTIDEPRESSIVA DE AZIRIDINAS**



Compostos	X	T. I. TDC <sup>b</sup> (s)	Ordem de efeito	
			Observada	Calculada para <i>E</i> <sub>4</sub> <sup>a</sup>
<b>2c</b>	3,4-diCl	126,25	3-5	2-5
<b>2b</b>	4-Cl	53,00	1-2	2-5
<b>2d</b>	4-CH <sub>3</sub>	88,57	3-5	2-5
<b>2e</b>	4-OCH <sub>3</sub>	112,25	3-5	2-5
<b>2a</b>	H	80,83	1-2	1

<sup>a</sup> Efeito estérico desfavorável para substituinte na posição 4

<sup>b</sup> Tempo (s) de imobilização no Teste do Desespero Comportamental (TDC)

Situação semelhante encontra-se descrita, por Blank e colaboradores, no estudo da atividade hipoglicemiante de fenaciltrifenilfosforanos (Blank et al., 1975), onde dentre quatro dos substituintes utilizados no que seria a segunda série de compostos, um apresentou atividade semelhante ao não substituído e os outros três apresentaram incremento de potência.

Como o composto substituído com 4-Br apresentou atividade durante o pré-teste, uma outra possibilidade é que os compostos com substituintes retiradores de elétrons sejam os mais ativos.

Existe uma possibilidade de que a alta atividade antidepressiva apresentada pelos compostos esteja relacionada a uma componente estérica ou retiradora de elétrons do substituinte.

Diante disso há necessidade também de sintetizar e testar, com substituintes retiradores de elétrons, como por exemplo, 4-F, 4-OH e 4-NO<sub>2</sub> entre outros.

Através do estudo de correlação estrutura-atividade seguindo o método manual de Topliss (Topliss, 1977), a partir dos resultados da atividade biológica da série inicial com os cinco compostos, foi possível prever uma nova série a ser sintetizada com o objetivo de aumentar a potência da atividade farmacológica.

A segunda série predita pelo método manual de Topliss foi aquela com substituintes em posições 2 e ou 3 e átomos pequenos na posição 4 do anel benzênico. Novos ensaios estão sendo programados para os compostos com substituintes X = 4-F, 3-NO<sub>2</sub>, 3-etil, 2,3-dimetil e 4-OH.

#### **4.8.2 ESTUDO DE MODELAGEM MOLECULAR**

Os parâmetros eletrônicos teóricos foram determinados para todas as moléculas das aziridinas. Inicialmente, as geometrias moleculares foram otimizadas utilizando-se o programa de mecânica molecular PCWIN. A partir da geometria das conformações mais estáveis, utilizou-se o método de mecânica



quântica semi-empírico AM1, através do pacote MOPAC 6.0 permitindo o cálculo das energias dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO, calor de formação e momento dipolar.

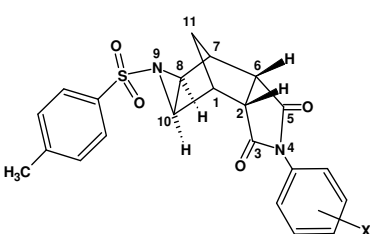
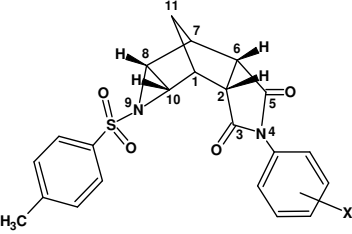
O gradiente de normalização que define o critério de terminação da otimização da geometria alcançou valores mínimos que ficaram na faixa entre 0,009822 até 0,006456.

A partir dos cálculos, realizados pelo programa Mopac 6.0, analisou-se inicialmente a densidade eletrônica ao redor dos dois átomos de nitrogênio presentes na molécula não substituída com o objetivo de identificar qual deles seria o mais susceptível a uma reação de protonação. Conforme os dados, apresentados na Tabela 21, acredita-se que o átomo de nitrogênio (N-9) do anel aziridínico foi o átomo protonado, pois é o que possui maior densidade eletrônica. Em consonância com esses resultados, na determinação experimental dos valores de  $pK_a$ , observou-se em todas as experiências apenas uma curva de titulação indicando que apenas um dos átomos foi protonado durante a reação.

Realizou-se também o cálculo teórico de estabilidade das estruturas protonadas em ambos os nitrogênios. Observou-se, a partir dos dados resumidos na Tabela 22, que o valor do  $\Delta H_f$  (153 e 157 kcal/mol para os estereoisômeros *exo-endo* e *endo-endo* respectivamente) quando a molécula foi protonada no nitrogênio aziridínico (N-9) foi menor do que quando protonada no nitrogênio (N-4) do anel imídico. Acredita-se que esta diferença de energia, desconsiderando a entropia, esteja relacionada com uma maior facilidade de protonação no nitrogênio (N-9) em relação ao nitrogênio (N-4) durante a titulação, mesmo porque

o nitrogênio do anel imídico sofre um forte efeito retirador de elétrons pelas carbonilas.

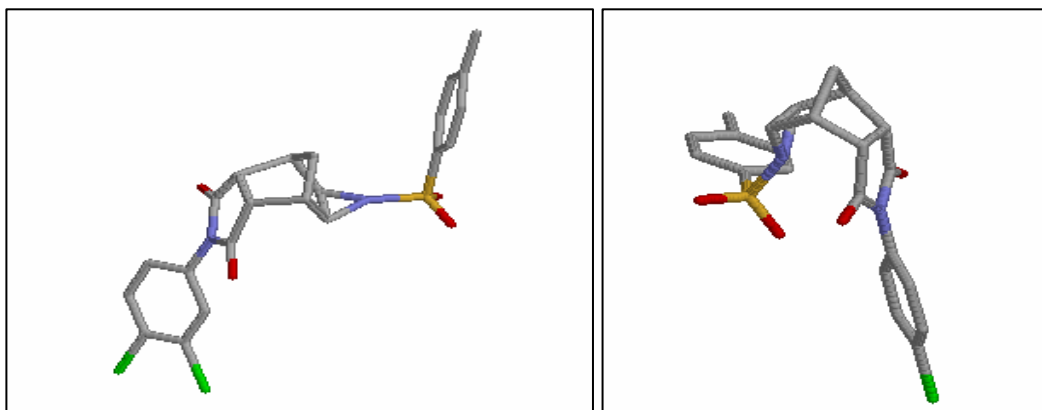
**TABELA 21 – DENSIDADE ELETRÔNICA DOS NITROGÊNIOS AZIRIDÍNICOS (N-9) E IMÍDICOS (N-4)**

<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p><b>exo-endo</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>endo-endo</b></p> </div> </div>		
	DENSIDADE	
ISÔMERO	Nitrogênio 4 ( <b>N-4</b> )	Nitrogênio 9 ( <b>N-9</b> )
<b>exo-endo</b>	5,2947	5,8857
<b>endo-endo</b>	5,2813	5,8322

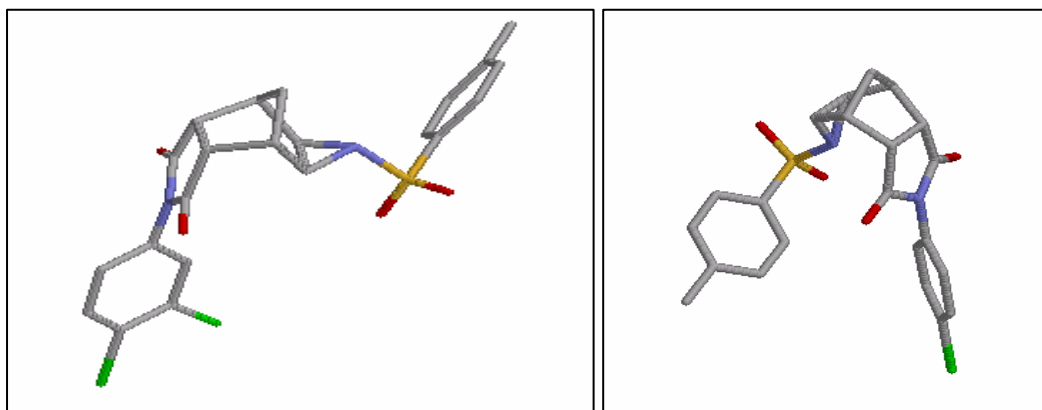
**TABELA 22 –  $\Delta H_f$  DAS AZIRIDINAS *EXO-ENDO* E *ENDO-ENDO* PROTONADAS**  
 **$\Delta H_f$  (kcal/mol)**

<b>exo-endo</b>		<b>endo-endo</b>	
<b>N-4</b>	<b>N-9</b>	<b>N-4</b>	<b>N-9</b>
178,21	152,78	179,64	157,44

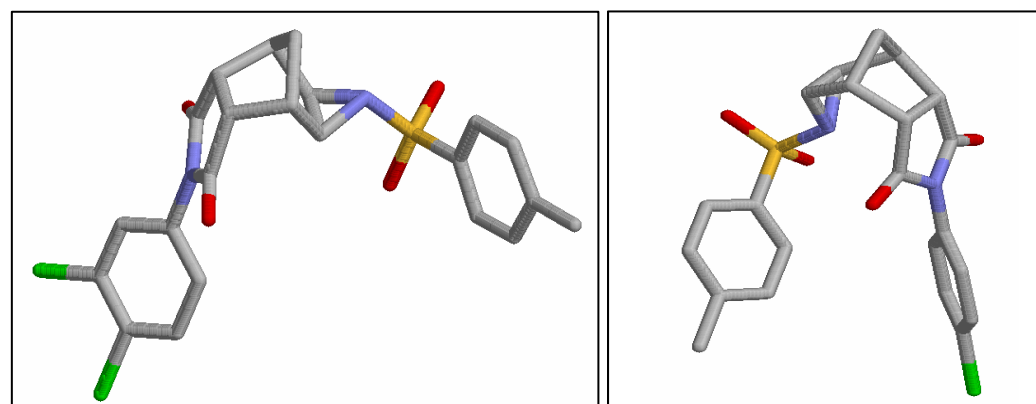
As Figuras 26 e 27 mostram as estruturas espaciais para estereoisômeros *exo-endo* e *endo-endo* das aziridinas obtidas pelo programa Mopac 6.0 e por cálculo *ab initio* respectivamente.



**Figura 26 – Estruturas dos estereoisômeros da aziridina não-substituída exo-endo (1c) e endo-endo (2b) minimizadas pelo Mopac.**



**Figura 27 – Estruturas dos estereoisômeros da aziridina não-substituída exo-endo (1c), endo-endo (2b) minimizadas através de cálculo ab initio.**



**Figura 28 – Estruturas dos estereoisômeros exo-endo aziridina (1c X = 3,4-diCl) e endo-endo (2b X = 4-Cl) obtidas por cristalografia de raios-X.**

A Figura 28 mostra as estruturas das aziridinas *exo-endo* (**1c**) e *endo-endo* (**2b**) obtidas a partir de análise cristalográfica por difração de raios-X.

Pode ser constatada, através dos valores de ângulos e comprimentos de ligações apresentados nas Tabelas 13a, 13b, 13c, 14a, 14b e 14c (Item 4.1.4 página 156), razoável semelhança com as estruturas calculadas.

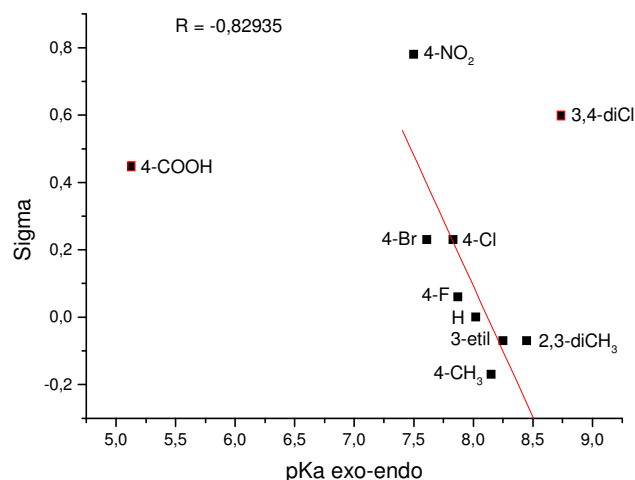
#### **4.8.2.1 CORRELAÇÕES ENTRE $pK_a(s)$ , CONSTANTES DOS SUBSTITUINTES ( $\sigma$ ) E PARÂMETROS ELETRÔNICOS TEÓRICOS.**

Foram avaliadas as possíveis relações lineares de energia livre entre os valores experimentais dos  $pK_a(s)$  das aziridinas e as constantes dos substituintes ( $\sigma$ ), que representam os efeitos eletrônicos. Os valores das constantes dos substituintes foram extraídos da literatura (Hansch et al., 1995).

Os derivados com os substituintes 4-COOH, 3,4-diCl e 2,3-diCH<sub>3</sub> foram desconsiderados no cálculo de regressão linear na maioria dos casos, devido ao comportamento não linear em comparação com os demais grupos.

Para os derivados di-substituídos, os parâmetros eletrônicos teóricos, calculados pelo programa MOPAC, não apresentaram resultados lineares em relação aos demais compostos. No caso do grupo 4-COOH, os compostos apresentaram valores de  $pK_a$  bastante diferentes dos demais. Acredita-se que durante a reação de protonação, na experiência de potenciometria, parte do HCl adicionado foi consumido na reprotonação do grupo carbóxi devido a sua constante de dissociação e por isso o erro experimental nesse caso é relativamente grande, conforme já comentado no item 4.2.1 deste trabalho. Por essas razões estes compostos apresentaram um comportamento bem distinto dos demais, praticamente em todas as correlações.

Na Figura 29, para o grupo de estereoisômeros *exo-endo*, os compostos com os substituintes 4-COOH e 3,4-diCl foram desconsiderados. Para o grupo *endo-endo* (Figura 30), apenas o composto substituído com o grupo 4-COOH foi desconsiderado.

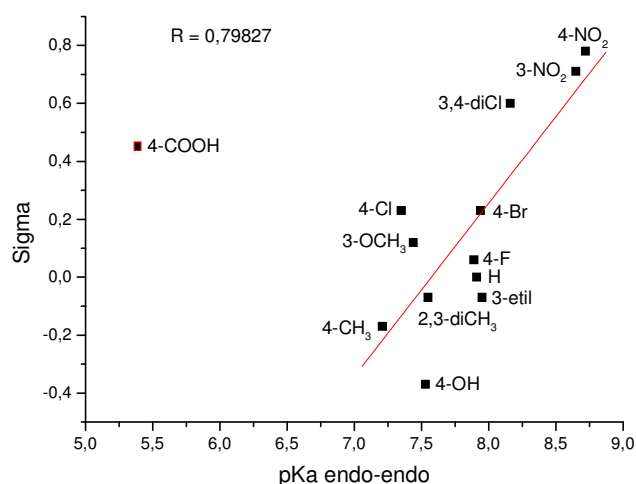


**Figura 29 – Correlação linear da constante  $\sigma$  do substituinte em função do  $pK_a$  das aziridinas *exo-endo* (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).**

Observa-se, nas Figuras 29 e 30, que os valores das constantes ( $\sigma$ ) foram proporcionais aos valores dos  $pK_a$ (s), apresentando uma correlação satisfatória ( $R = 0,83$  e  $0,80$ ), tanto para o grupo *exo-endo* quanto para o grupo *endo-endo*.

De maneira geral, observou-se menores valores de  $pK_a$  para os derivados *exo-endo* com grupos retiradores de elétrons, ou seja os grupos retiradores de elétrons desativam ou desfavorecem a reação de protonação. Os compostos são bases mais fracas do que aqueles com substituintes doadores, e conseqüentemente os ácidos conjugados são mais fortes. Este efeito está de

acordo com o esperado, indicando uma linearidade na transmissão do efeito eletrônico.

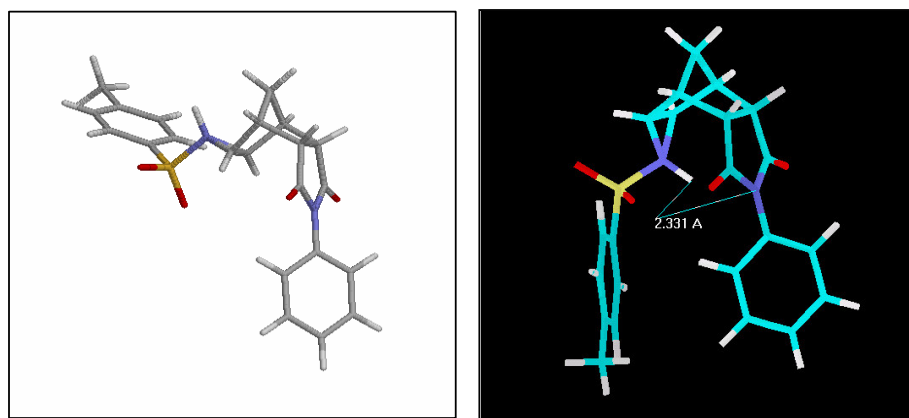


**Figura 30 – Correlação linear da constante  $\sigma$  do substituinte em função do  $pK_a$  das aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).**

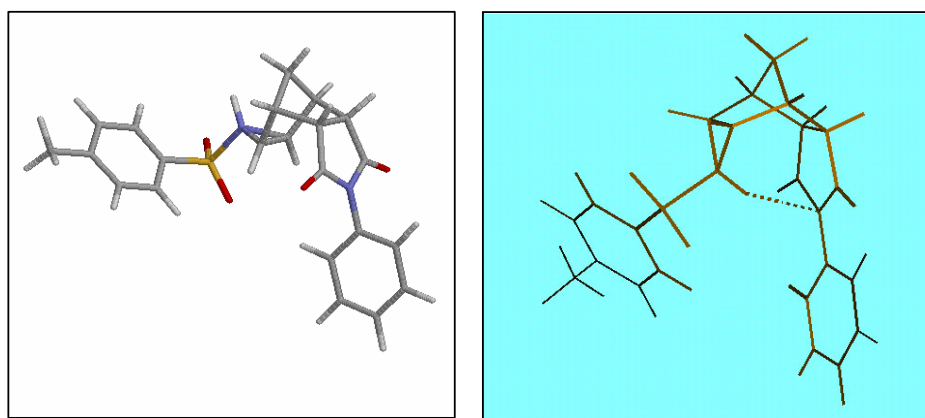
No grupo *endo-endo* (Figura 30), observou-se exatamente o contrário. Neste caso grupos doadores de elétrons correspondem aos ácidos conjugados mais fortes ( $pK_a$ (s) menores).

Observa-se, nas conformações de menor energia das aziridinas *endo-endo*, (Figuras 31 e 32), uma proximidade entre o próton (ligado ao nitrogênio N-9), e o nitrogênio do anel imídico (N-4) (2,33 Å). Os resultados do cálculo *ab initio* e semi-empírico apontam uma ligação de hidrogênio entre esses átomos, sendo as ligações em torno de 2,43 Å quando os substituintes são grupos doadores e em torno de 2,46 Å quando os substituintes são grupos retiradores de elétrons. Um efeito de campo, proporcionado pelos substituintes, devido a conformação dos estereoisômeros *endo-endo*, explica as diferenças de comportamento, quando observada a inclinação das retas nas correlações entre

parâmetros empíricos ( $\sigma$ ) e parâmetro teóricos em função dos  $pK_a(s)$  das aziridinas. Embora não exista uma relação direta entre o comprimento da ligação de hidrogênio calculado e o  $pK_a$  das aziridinas *endo-endo*, grupos doadores de elétrons, os quais apresentam as ligações de hidrogênio mais curtas, correspondem aos ácidos conjugados mais fortes. Esse fato faz sentido, uma vez que, um grupo doador de elétrons tornaria a ligação de hidrogênio mais intensa em detrimento da ligação entre o nitrogênio do anel aziridínico (N-9) e o próton, tornando este centro mais suscetível à perda desse próton, diminuindo assim a sua basicidade.

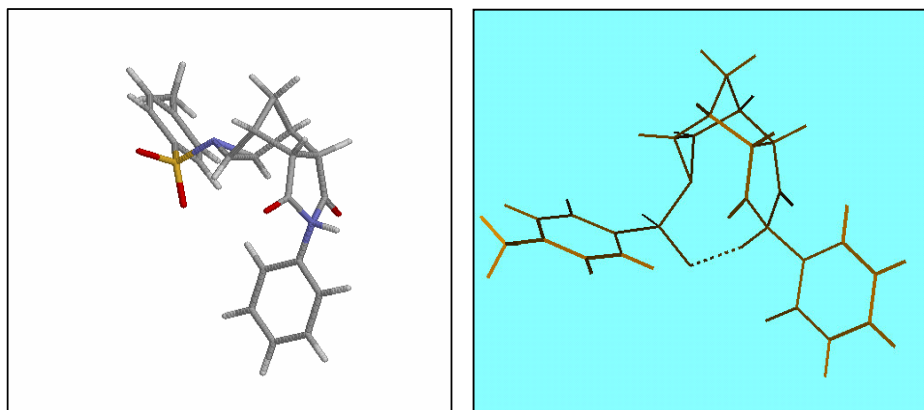


**Figura 31 – Estruturas dos estereoisômeros da aziridina *exo-endo* (1a) e *endo-endo* (2a), protonadas no nitrogênio do anel aziridínico, minimizadas pelo Mopac.**

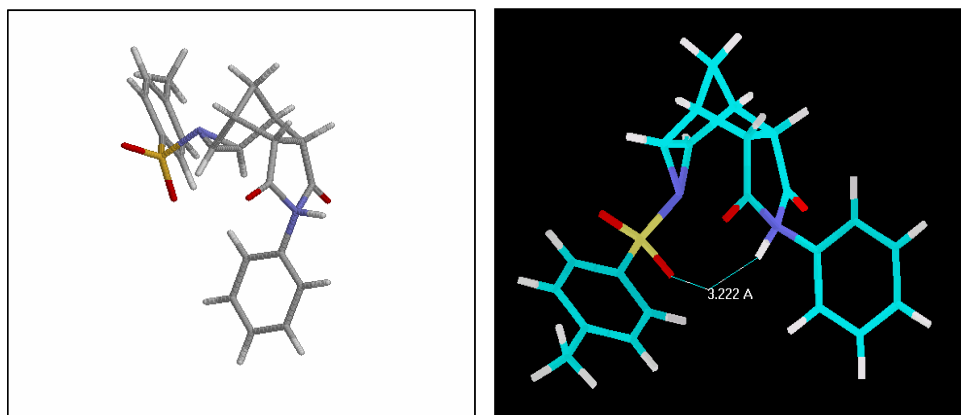


**Figura 32 – Estruturas dos estereoisômeros da aziridina *exo-endo* (1a) e *endo-endo* (2a), protonadas no nitrogênio do anel aziridínico, minimizadas através de procedimento *ab initio*.**

Situação semelhante, ao caso das aziridinas protonadas no nitrogênio aziridínico, é observada quando são analisadas as estruturas *endo-endo* protonadas no nitrogênio do anel imídico. Neste caso a distância entre o próton (ligado no N-4) e um dos oxigênios do grupo sulfonila é maior (3,22 Å) (Figuras 33 e 34).



**Figura 33 – Estruturas dos estereoisômeros da aziridina *exo-endo* (1a) e *endo-endo* (2a), protonadas no nitrogênio do anel imídico, minimizadas pelo Mopac.**

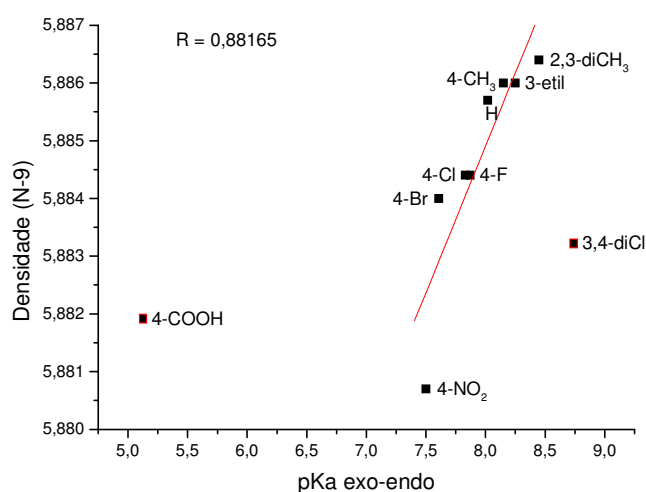


**Figura 34 – Estruturas dos estereoisômeros da aziridina *exo-endo* (1a) e *endo-endo* (2a), protonadas no nitrogênio do anel imídico, minimizadas através de procedimento *ab initio*.**

Foram avaliadas as correlações entre os  $pK_a(s)$  e os parâmetros eletrônicos teóricos, como densidade no nitrogênio do anel aziridínico e energia dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO.



Através das Figuras 35 e 36 verifica-se que para os estereoisômeros *exo-endo* existe uma correlação razoável entre a densidade do nitrogênio do anel aziridínico e o  $pK_a$  ( $R = 0,88$ ). A presença de um grupo doador de elétrons aumenta a densidade no nitrogênio levando a um maior valor de  $pK_a$ . No entanto, para o grupo dos estereoisômeros *endo-endo* este efeito ocorre de maneira contrária.

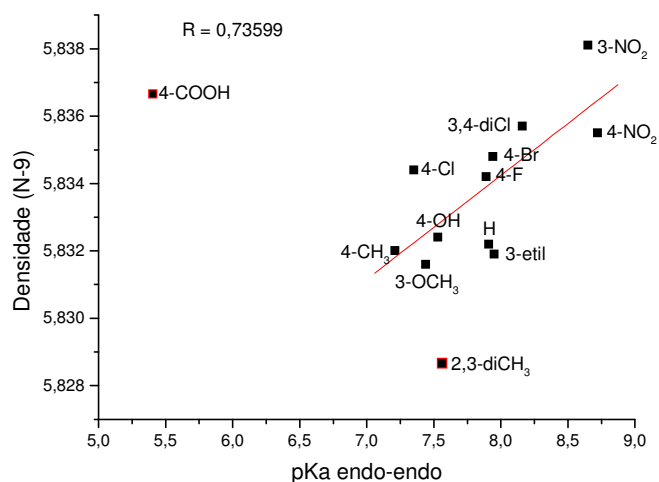


**Figura 35 – Correlação linear da densidade do nitrogênio aziridínico (N-9) em função do  $pK_a$  das aziridinas *exo-endo* (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).**

O resultado dos cálculos semi-empíricos mostra que os grupos retiradores de elétrons apresentam uma maior densidade do nitrogênio levando a um maior valor de  $pK_a$ . Este fato está relacionado com o efeito de campo proporcionado pelos substituintes sobre o N-9, devido a conformação dos estereoisômeros *endo-endo*, conforme discutido anteriormente com relação as Figuras 30, 31 e 32. O coeficiente de correlação observado ( $R = 0,74$ ), relativamente baixo, pode estar relacionado ao fato da ligação de hidrogênio entre o próton e o N-4 ser de natureza essencialmente eletrostática. Neste caso a

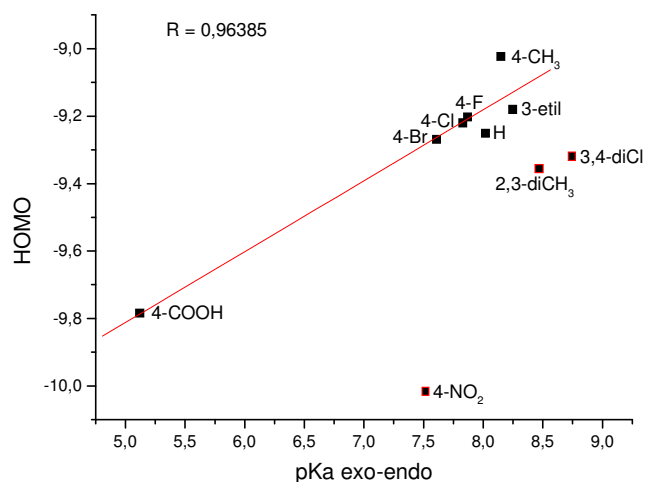
transmissão do efeito não é linear, já que um potencial eletrostático varia com o inverso da distância.

Os compostos substituídos com 4-COOH e 3,4-diCl não foram levados em consideração na análise de regressão linear no grupo *exo-endo* (Figura 35) e os compostos com 4-COOH e 2,3-dimetil no caso do grupo *endo-endo* (Figura 36).

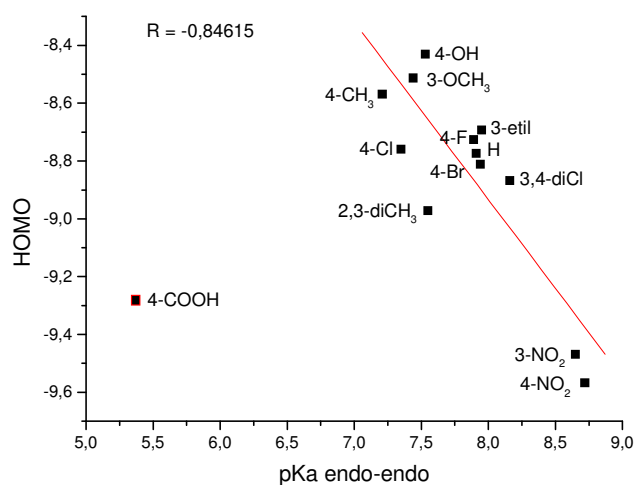


**Figura 36 – Correlação linear da densidade do nitrogênio aziridínico (N-9) em função do  $pK_a$  das aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).**

Nas Figuras 37 e 38 encontram-se os gráficos que representam a correlação entre a energia dos orbitais de fronteira HOMO e o  $pK_a$  das aziridinas. Também neste caso observa-se uma boa correlação tanto para os estereoisômeros *exo-endo*, quanto para *endo-endo* ( $R = 0,96$  e  $0,85$  respectivamente).



**Figura 37 – Correlação linear da energia do HOMO em função do  $pK_a$  das aziridinas exo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).**

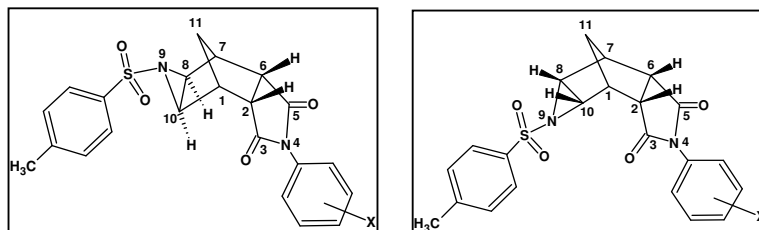


**Figura 38 – Correlação linear da energia do HOMO em função do  $pK_a$  das aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).**

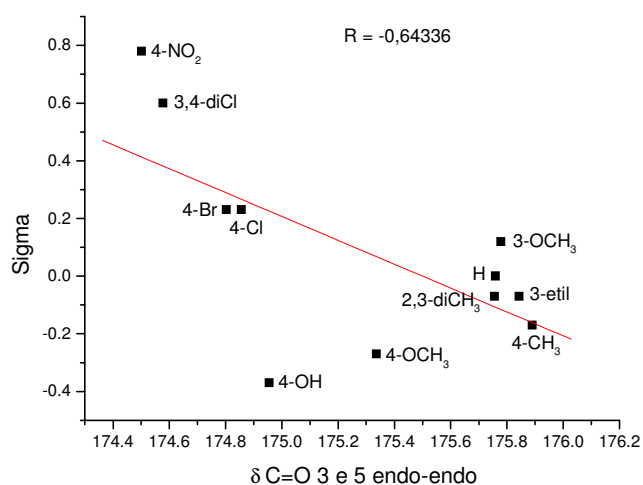
Os resultados do cálculo teórico apontam um maior valor de energia do HOMO para o nitrogênio do anel aziridínico. Acredita-se, portanto, que a boa correlação entre estes dados deve-se ao fato de que a molécula em estudo participa da reação de protonação através do orbital de fronteira (HOMO), cuja densidade de carga está localizada no nitrogênio do anel aziridínico. Os derivados

*exo-endo* substituídos com 4-NO<sub>2</sub>, 3,4-diCl e 2,3-dimetil (Figura 37) e *endo-endo* 4-COOH (Figura 38), não foram considerados na análise de regressão linear.

#### 4.8.2.2 CORRELAÇÕES ENTRE DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE RMN <sup>13</sup>C, CONSTANTES DOS SUBSTITUINTES ( $\sigma$ ) E PARÂMETROS ELETRÔNICOS.

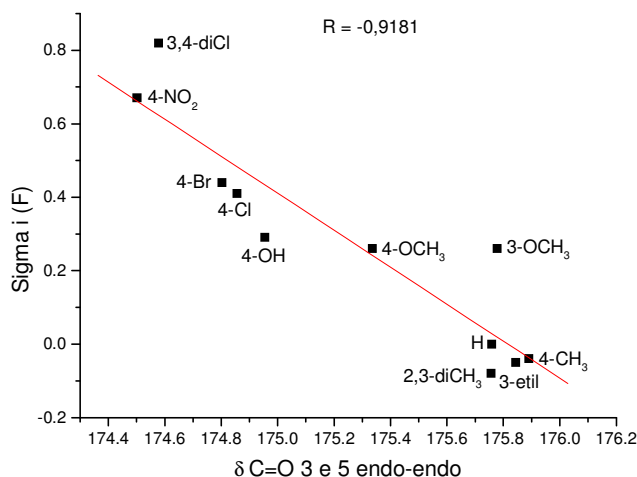


Neste trabalho realizou-se também um estudo de correlação entre dados experimentais como deslocamentos químicos de RMN de <sup>13</sup>C das aziridinas, constantes dos substituintes ( $\sigma$ ) (Hansch et al., 1995) e vários parâmetros eletrônicos teóricos, dos confôrmeros mais estáveis, tais como, densidade das carbonilas, densidade dos carbonos **1**, **2**, **6**, **7**, **8**, **10** e energia dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO. Os resultados mais importantes encontram-se resumidos e discutidos a seguir.



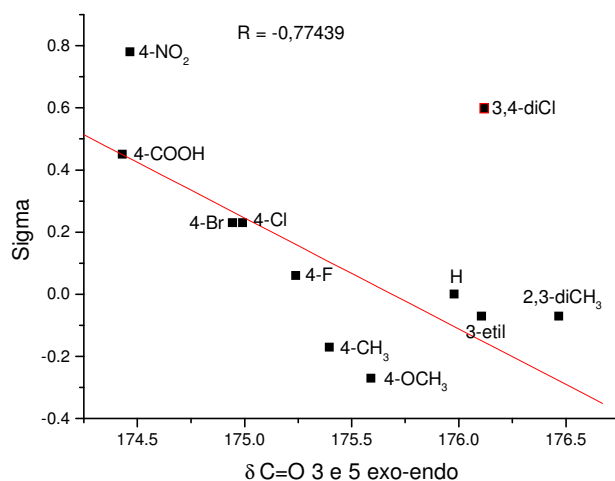
**Figura 39** – Correlação linear da constante do substituinte ( $\sigma$ ) em função do deslocamento químico de RMN <sup>13</sup>C das carbonilas das aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).

Nas Figuras 39 e 40 são mostradas as correlações entre os valores das constantes dos substituintes e os deslocamentos químicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  das carbonilas **3** e **5** para os estereoisômeros *endo-endo*. Observa-se que a melhor correlação ( $R = 0,92$ ) ocorreu quando se analisou somente o efeito indutivo ( $\sigma_i$  ou  $F$  de Swain e Lupton) (Martin, 1978; Hansch et al., 1995). Este fato deve-se a uma não coplanaridade entre o anel imídico e o anel benzênico na estrutura do estereoisômero *endo-endo* (Figura 26). Assim o efeito de ressonância não foi transmitido de maneira efetiva, sendo que o efeito indutivo (incluindo o de campo) foi mais eficientemente envolvido.

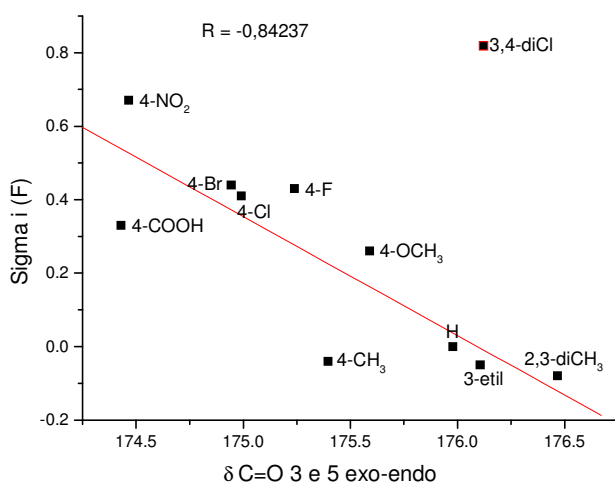


**Figura 40 – Correlação linear da constante do substituinte ( $F$ ) em função do deslocamento químico de RMN  $^{13}\text{C}$  das carbonilas das aziridinas *endo-endo* (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).**

Por outro lado, no grupo de estereoisômeros *exo-endo* (Figuras 41 e 42), tal fenômeno não é tão acentuado, pois os valores de  $R$  são semelhantes tanto para os valores de  $\sigma$  quanto para os valores de  $\sigma_i$ . Em ambos os casos o composto substituído com o grupo 3,4-diCl foi desconsiderado na regressão.



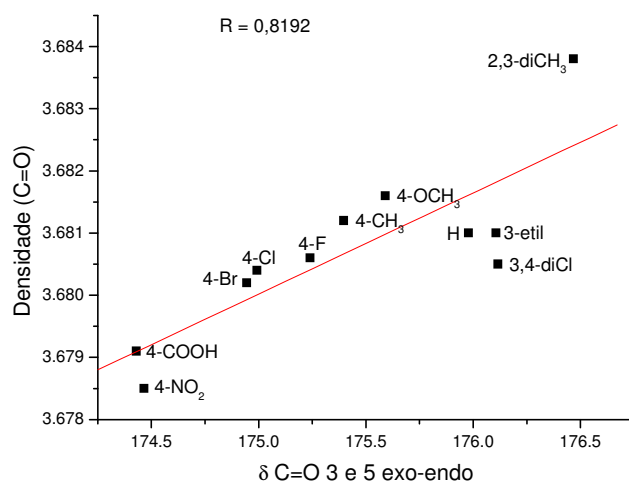
**Figura 41** – Correlação linear da constante do substituinte ( $\sigma$ ) em função do deslocamento químico de RMN <sup>13</sup>C das carbonilas das aziridinas exo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).



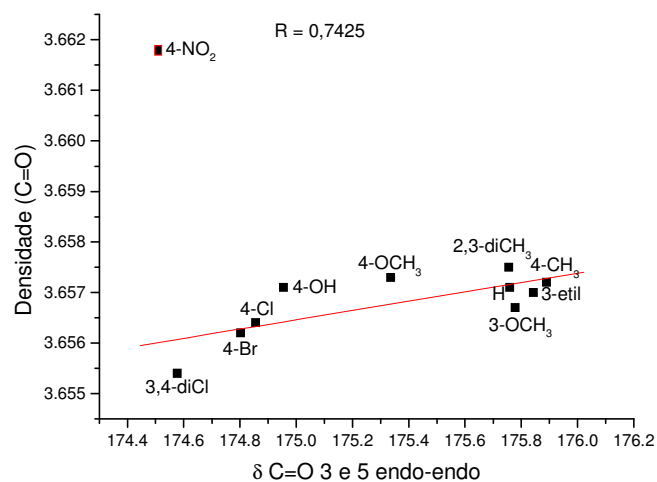
**Figura 42** – Correlação linear da constante do substituinte ( $F$ ) em função do deslocamento químico de RMN <sup>13</sup>C das carbonilas das aziridinas exo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).

As Figuras 43 e 44 mostram os resultados da correlação linear entre a densidade das carbonilas (**3** e **5**) e o deslocamento de RMN de <sup>13</sup>C. Percebe-se que, a presença de grupos doadores de elétrons aumenta a densidade da

carbonila e, conseqüentemente, deslocam o sinal no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  para campo baixo. Este efeito aparece mais acentuado no grupo de estereoisômeros *exo-endo*. Na série *endo-endo* o estereoisômero substituído com o grupo 4- $\text{NO}_2$  encontra-se totalmente fora da reta e não foi considerado na análise de regressão linear.



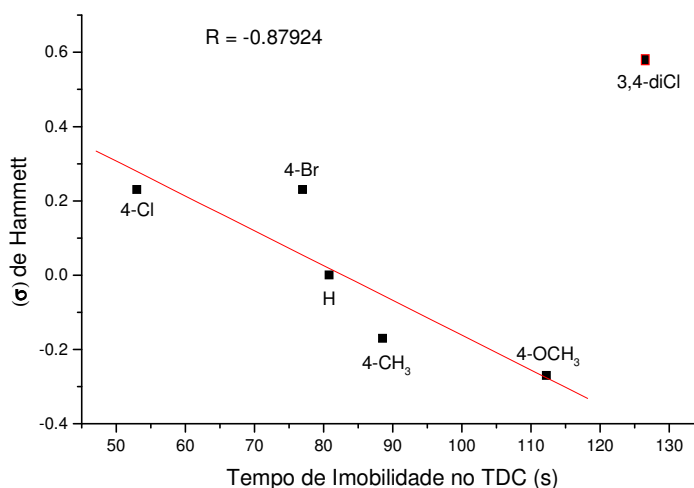
**Figura 43 – Correlação linear da densidade eletrônica das carbonilas em função do deslocamento químico de RMN  $^{13}\text{C}$  das aziridinas *exo-endo* (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).**



**Figura 44 – Correlação linear da densidade eletrônica das carbonilas em função do deslocamento químico de RMN  $^{13}\text{C}$  das aziridinas *endo-endo* (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).**

#### 4.8.2.3 CORRELAÇÕES ENTRE TEMPO DE IMOBILIDADE NO TDC, CONSTANTES DOS SUBSTITUINTES ( $\sigma$ ) E PARÂMETROS ELETRÔNICOS TEÓRICOS.

Foram avaliadas as possíveis relações lineares de energia livre entre, as medidas de tempo (retirados da Tabela 20, item **4.8.1**) obtidas a partir do TDC com as aziridinas, as constantes dos substituintes ( $\sigma$  e  $F$ ), e os parâmetros eletrônicos teóricos, como densidades dos nitrogênios N-4 e N-9, e as energias dos orbitais HOMO e LUMO. Os resultados encontram-se discutidos a seguir:

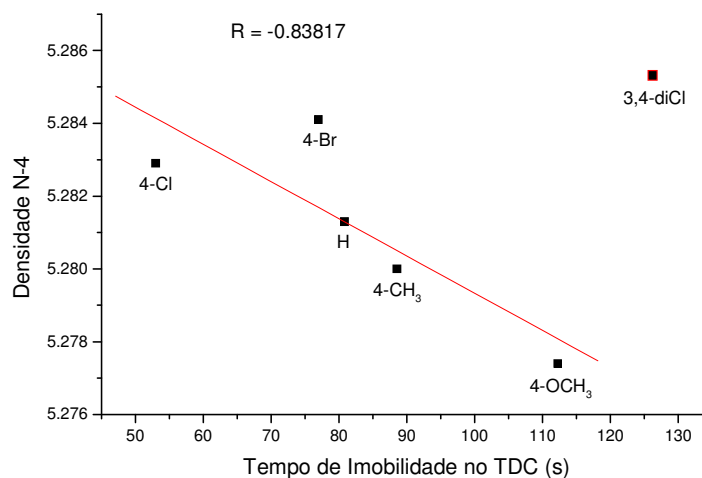


**Figura 45 – Correlação linear da constante do substituinte ( $\sigma$ ) em função do Tempo de Imobilidade no TDC para as aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).**

Observa-se, através da Figura 45, que existe uma boa correlação linear entre o valor de  $\sigma$  do substituinte e o tempo de imobilidade no TDC excluindo o composto com substituinte 3,4-diCl ( $R = 0,88$ ). No referido teste, os compostos com substituinte 4-Cl, H e 4-Br apresentaram atividade significativa com 95 % de confiabilidade. Os compostos com substituinte 4-CH<sub>3</sub> e 4-OCH<sub>3</sub> não apresentaram atividade. Assim como no estudo de SAR através do Método Manual de Topliss (discutido no item **4.8.1**), aqui também é possível deduzir que a



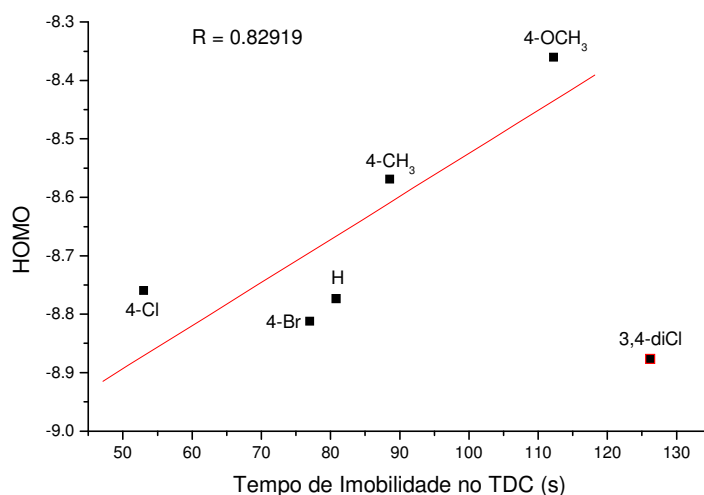
potência da atividade antidepressiva pode estar relacionada com substituintes retiradores de elétrons, porém no caso do 3,4-diCl, embora seja um grupo fortemente retirador de elétrons, a inatividade do mesmo deve estar relacionada provavelmente, com algum impedimento estérico na posição 3 do anel aromático.



**Figura 46 – Correlação linear da densidade do nitrogênio do anel imídico (N-4) em função do Tempo de Imobilidade no TDC para as aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).**

Suspeita-se que a atividade antidepressiva das benzenossulfonilaziridinas, sintetizadas neste trabalho, esteja relacionada com grupos substituintes retiradores de elétrons e com a abertura do anel imídico, de modo semelhante aos derivados imídicos citados na literatura (Cechinel Filho, 2003; Hargreaves et al., 1970). Quando analisamos as correlações entre as densidades dos nitrogênios do anel imídico (N-4) e do anel aziridínico (N-9) com o tempo de imobilidade no TDC, somente a correlação da densidade do N-4 em função do tempo de imobilidade no TDC foi satisfatória como mostra a Figura 46 ( $R = 0,84$ ).

Embora a reação de imidas em sistemas biológicos esteja relacionada com a abertura do anel imídico pelo ataque nucleofílico de biomoléculas a uma das carbonilas (Hargreaves et al., 1970), e isso de daria com o LUMO da imida e o HOMO da biomolécula, neste caso não se obteve uma boa correlação entre a energia do LUMO e o tempo de imobilidade no TDC.



**Figura 47 – Correlação linear da Energia do HOMO em função do Tempo de Imobilidade no TDC para as aziridinas endo-endo (ponto(s) em vermelho desconsiderado(s) na regressão linear).**

Por outro lado obteve-se uma boa correlação entre a energia do HOMO e o tempo de imobilidade no TDC ( $R = 0,83$ ) (Figura 47). Acredita-se que neste caso estaria acontecendo o contrário, ou seja, a atividade antidepressiva das benzenossulfonilaziridinas estaria relacionada a uma reação no sistema biológico onde a interação se daria pela parte da molécula com uma maior densidade eletrônica e uma região da biomolécula deficiente eletronicamente.

O estudo de modelagem molecular direciona futuros experimentos, sejam eles de síntese ou de testes de atividade biológica de novos compostos em

uma série, bem como experimentos relacionados ao mecanismo de ação dos compostos.

O estudo de modelagem molecular e SAR tornam a busca de novos fármacos, uma pesquisa mais rápida, mais econômica e com maiores chances da contemplação com resultados positivos, que possam ter continuidade e culminem em novos medicamentos mais potentes, mais eficientes conseqüentemente e com reduzidos efeitos adversos.

## 5 CONCLUSÕES

- Foram sintetizados, separados e caracterizados vinte e cinco derivados aziridínicos com estereoquímica *exo-endo* e *endo-endo* (estruturas **1** e **2a-o**), ainda não descritos na literatura;

- Determinou-se, experimentalmente, através do método potenciométrico, o  $pK_a$  de dez derivados com estereoquímica *exo-endo* e treze com estereoquímica *endo-endo*, da série sintetizada;

- Realizaram-se ensaios farmacológicos, através do Teste do Desespero Comportamental (TDC), em convênio com a CEF – UFSC, sendo que, somente os compostos com estereoquímica *endo-endo* apresentaram atividade antidepressiva. De seis compostos testados, três apresentaram atividade estatisticamente significativa (**2a**, **2b** e **2f**);

- Realizou-se um pré-teste de atividade antinoceptiva, através do modelo de dor induzido pela formalina, com dois compostos *exo-endo* (**1e** e **1f**) e dois *endo-endo* (**2e** e **2f**). Apenas um dos compostos *exo-endo*, o **1e** inibiu a segunda fase de dor de modo significativo nesse modelo;

- Realizou-se uma série de ensaios frente a bactérias e fungos, em convênio com o Departamento de Microbiologia da UFRRJ, com oito compostos *exo-endo* e onze *endo-endo*, onde nenhum desses compostos apresentou atividade antibiótica relevante contra os microorganismos ensaiados;

- Foram realizados ensaios farmacológicos frente ao micro crustáceo *Artemia salina* Leach, em conjunto com Departamento de Química da UFRRJ, com oito pares de estereoisômeros, *exo-endo* e *endo-endo*, onde somente dois

compostos com estereoquímica *endo-endo* apresentaram importante toxidez (**2a** com uma  $CL_{50} = 0,80 \mu M$  e **2b** com  $CL_{50} = 0,92 \mu M$ );

- Nos ensaios biológicos com cultura de células com carcinoma de Ehrlich, 8 derivados *exo-endo* e 9 *endo-endo* foram testados, em conjunto com o Departamento de Química da UFRRJ, e somente a aziridina *exo-endo* (**1e**) apresentou atividade citotóxica com  $IC_{50} = 105,62 \mu M$ ;

- Estudo de SAR, pelo método manual de Topliss, sugere que a atividade antidepressiva pode estar relacionada com substituintes retiradores de elétrons e a falta de atividade relacionada com impedimento estérico de substituintes grandes nas posições 3 ou 4. As próximas aziridinas a serem sintetizadas e testadas serão aquelas com substituintes no anel aromático: 3-Cl; 3-CH<sub>3</sub>; 3-OCH<sub>3</sub>; 3-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; 3-CF<sub>3</sub>; 3,5-diCl e átomos pequenos e retiradores de elétrons na posição 4 do anel aromático;

- Estudo de SAR, através de relações lineares de energia livre, entre o tempo de imobilidade no TDC, constante dos substituintes e parâmetros eletrônicos teóricos, também indicaram a possibilidade da atividade antidepressiva estar relacionada com substituintes retiradores de elétrons na posição 4 do anel aromático. As correlações sugerem uma provável relação, da atividade antidepressiva, com o envolvimento da parte imídica da molécula em reações biológicas, o que está de acordo com a literatura (Cechinel Filho et al., 2003).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, P. A., SILVA, T. M. S., ECHEVARRIA, A. Mesoionic 5-Alkyl-1,3-Dithiolium-4-Thiolates: Synthesis and Brine Shrimp Toxicity. ***Heterocycl. Commun.*** v. 8, n. 6, 2002.
- ARRUDA, E. A. G. Infecção Hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa* Multi-resistente: Análise Epidemiológica no HC-FMUSP. ***Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*** v. 31, n. 5, p. 503 – 504, 1998.
- ATKINSON, R. S. 3-Acetoxyaminoquinazolinones (QNHOAc) as Aziridinating Agents: Ring-opening of N-(Q)-substituted Aziridines. ***Tetrahedron.*** v. 55, p. 1519 – 1559, 1999.
- AULT, A. ***Techniques and Experiments for Organic Chemistry.*** 5. ed. New York: Waveland. 1994. 541 p.
- AYLIFFE, G. A. J. 1997. The Progressive Intercontinental Spread of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. ***Clin. Infect. Dis.*** v, 24, p. S74 – S79, 1997.
- BALDWIN, J. E., PINSCHMIDT Jr, R. K., ANDRIST, A. H. Bicyclo[2.1.0]pent-2-ene. Tests for the Retro-ene Mechanism of Thermal Isomerization. ***J. Amer. Chem. Soc.*** v. 92, n. 17, p. 5249 – 5251, 1970.
- BARONE, P. M. V. B., DANTAS, S.O., GALVÃO, D. S. A Semi-empirical Study on the Electronic Structure of Ellipticines. ***J. Mol. Struct.*** v. 465, p. 219 – 229, 1999.

- BARREIRO, E. J., FRAGA, C. A. M., MIRANDA, A. L. P., RODRIGUES, C. R. A. Química Medicinal de N-Acildrazonas: Novos Compostos-Protótipos de Fármacos Analgésicos, Antiinflamatórios e Anti-Trombóticos. **Quím. Nova.** v. 25, n. 1, 129 – 148, 2002.
- BARREIRO, E. J., FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos.** Porto Alegre: Artmed, 2001. 244 p.
- BEILSTEIN, PRAGER, TACOBSON, RICHTER, **Beilstein Handbuch der Organischen Chemie Vierte Auflage**, v. 21, p. 400, 1965.
- BIAGINI, S. C. G., BUSH, S. M., GIBSON, V. C., et. al. The Synthesis of N-Norbornenyl-Amino Acids and Esters: Monomers for the Preparation of Well Defined Polymers. **Tetrahedron.** v. 51, n. 26, p. 7247 – 7262, 1997.
- BLANK, B., DI TULLIO, N. W., DEVINEY, L. et al. Synthesis and Hypoglycemic Activity of Phenacyltriphenylphosphoranes and Phosphonium Salts. **J. Med. Chem.** v. 18, n. 9, p. 952 – 954, 1975.
- BORSINI, F., LECCI, A., SESSAREGO, A. et. al. Discovery of Antidepressant Activity by Forced Swimming Test May Depend on Pre-exposure of Rats to a Stressful Situation. **Psychopharmacology.** v. 97, p. 183 – 188, 1989.
- BOYLE, A. A Comparative Semi-empirical Study of the Effect of Ring Ortho-substitution on the Conformation of Diphenylamine. **J. Mol. Struct.** v. 469, p. 15 – 23, 1999.
- CAREY, F. A., SUNDBERG, R. J. **Advanced Organic Chemistry – Part A.** 3. ed. New York: Plenum Press. 1990. 802 p.

- CARRUTHERS, W. ***Some Modern Methods of Organic Synthesis***. 3. ed. Cambridge: Cambridge University, 1993. 526 p.
- CAVA, M.P., DEANA, A. A., MUTH, K. et al. N-phenylmaleimide. In: BAUMGARTEN, H. E. ***Org. Synth. Collective***. New York: Jhon Wiley and Sons, 1973. v. V, p. 944 – 946.
- CAWLEY, J. J. An Experiment for Liberal Arts or Science Students. ***J. Chem. Educ.*** v. 70, n. 7, p. 596 – 598, 1993.
- CAWLEY, J. J. Part II. An Experiment Using Very Weak Acids ( $pK_a$ 's > 11,4). ***J. Chem. Educ.*** v. 72, n. 1, p. 88 – 90, 1995.
- CECHINEL FILHO, V. ***Obtenção de Compostos Farmacologicamente Ativos a Partir de Produtos Naturais. Correlação Estrutura Química – Atividade Biológica***. Departamento de Química-UFSC, 1995. p. 73 – 85 (Tese de Doutorado em Química Orgânica).
- CECHINEL FILHO, V., DE CAMPOS, F., CORRÊA, R., YUNES, R. A., NUNES, R. J. Aspectos Químicos e Potencial Terapêutico de Imidas Cíclicas: Uma Revisão da Literatura. ***Quím. Nova***. v. 26, n. 2, p. 230 – 241, 2003.
- CECHINEL FILHO, V., YUNES, R. A. Estratégias para a Obtenção de Compostos Farmacologicamente Ativos a partir de Plantas medicinais. Conceitos sobre Modificação Estrutural para Otimização da Atividade. ***Quím. Nova***. v. 21, n. 1, p. 99 – 105, 1998.



- CHENIER, P. J., BAUER, M. J., HODGE, C. L. Synthesis and Chemistry of Some Tricyclic Cyclopropenes. 3. Tricyclo[3.2.1.0<sup>2,4</sup>]oct-2(4)-ene. **J. Org. Chem.** v. 57, n. 22, p. 5959 – 5962, 1992.
- CIPOLLINA, J. A., RUEDIGER, E. H., NEW, J. S., et al. Synthesis and Biological-Activity of the Putative Metabolites of the Atypical Antipsychotic Agent Tiospirone. **J. Med. Chem.** v. 34, n. 11, p. 3316 – 3328, 1991.
- COHEN, S. H., MORITA, M. M. E BRADFORD, M. A Seven-year Experience with Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Am. J. Med.** v. 91 (Suppl. 3B), p. 233S – 237S, 1991.
- CORRÊA, R. **Síntese de Compostos Imídicos Cíclicos de Interesse Biológico**. Departamento de Química-UFSC, 1997. 166 p. (Dissertação, Mestrado em Química Orgânica).
- CRAIG, D. The Rearrangement of endo-3,6-Methylene-1,2,3,6-tetrahydro-cis-phthalic Anhydride. **J. Am. Chem. Soc.** v. 73, p. 4889 – 4892, 1951.
- CRAIG, P. N. Interdependence Between Physical Parameters and Selection of Substituent Groups for Correlation Studies. **J. Med. Chem.** v. 14, n. 8, p. 680 – 684, 1971.
- DA SILVA, C. O., DA SILVA, E. C., NASCIMENTO, M. A. C. Pseudospectral Calculation of the Gas-Phase Acidities of Aliphatic Alcohols. **Int. J. Quantum Chem.** v. 74, n. 4, p. 417 – 422, 1999.

- DE LENCASTRE, H., DE LENCASTRE, A. E TOMASZ, A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Recovered from a New York City Hospital: Analysis by Molecular Fingerprinting Techniques. **J. Clin. Microbiol.** v. 34, p. 2121 – 2124, 1996.
- DE OLIVEIRA, R. B., ALVES, R. J. Agentes Antineoplásicos Biorredutíveis: Uma Nova Alternativa para o Tratamento de Tumores Sólidos. **Quím. Nova.** v. 25, n. 6, p. 976 – 984, 2002.
- DEITOS, F., COPETTE, F. R., PASQUALOTTO, A. C. et al. **Revisão: Antidepressivos e seus efeitos colaterais, quais são e como reconhecê-los.** Capturado em 14 Set. 2002 On-line. Disponível na Internet, <http://www.moreirajr.com.br/clinica/mar99/rctantideprer.htm>.
- DETKE, M.J., IRWIN, L. Detection of Serotonergic and Noradrenergic Antidepressants in the Rat Forced Swimming Test: the Effects of Water Depth. **Behav. Brain Res.** v. 73, p. 43 – 46, 1996.
- DEUTSCH, H. M., GELBAUM, L. T., McLAUGHLIN, M., et al. Synthesis of Congeners and Prodrugs of the Benzene Maleimide Photoadduct Mitindomide as Potential Antitumor Agents. **J. Med. Chem.** v. 29, n. 11, p. 2164 – 2170, 1986.
- DEWAR, M. J. S., ZOEBISCH, E. G., HEALY, E. F., STEWART, J. J. P. AM1: A New General Purpose Quantum Mechanical Molecular. **J. Am. Chem. Soc.** v. 107, n. 13, p. 3902 – 3909, 1985.

- EBERLEIN, W. G., TRUMMLITZ, G., ENGEL, W. W., et al. Tricyclic Compounds as Selective Antimuscarinics. Structural Requirements for Selectivity Toward the Muscarinic Acetylcholine-Receptor in a Series of Pirenzepine and Imipramine Analogs. **J. Med. Chem.** v. 30, n. 8, p. 1378 – 1382, 1987.
- FERREIRA, M. M. C., MONTANARI, C. A., GAUDIO, A. C. Seleção de Variáveis em QSAR. **Quím. Nova.** v. 25, n. 3, p. 439 – 448, 2002.
- GAUDIO, A. C., ZANDONADE, E. Proposição, Validação e Análise dos Modelos que Correlacionam Estrutura Química e Atividade Biológica. **Quím. Nova.** v. 24, n.5, p. 658 – 671, 2001.
- GOODMAN, L. S., GILMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica.** 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 1232 p.
- HAEFELY, W., BURKARD, W. P., CESURA, A. M., et al. Biochemistry and Pharmacology of Moclobemide, a Prototype Rima. **Psychopharmacology.** v. 106, p. S6-S14, (Suppl. S), 1992.
- HALE, R. L., ZALKOW, L. H. The Reaction of Benzenesulfonyl Azide with *cis*-endo and *cis*-exo Norbornene-5,6-dicarboxylic Acid Anhydrides and Methyl Esters. The Formation of endo Aziridines from *exo* Triazolines. **Tetrahedron.** v. 25, p. 1393 – 1405, 1969.
- HANSCH, C., LEO, A., HOEKMAN, D. **Exploring QSAR Hydrophobic, Eletronic and Steric Constants.** Washington, DC: The American Chemical Society, 1995. 347p.

- HANSCH, C., LEO, A., UNGER, S. H., et. al. "Aromatic" Substituent Constants for Structure-Activity Correlations. **J. Med. Chem.** v. 16, n. 11, p. 1207 – 1216, 1973.
- HANSCH, C., SAMMERES, P.G., Taylor, J.B. Hydrofobic Properties of drugs, In Comprehensive Medicinal Chemistry. The Rational Design, Mechanistic Study and Therapeutic Application of Chemical Compounds, **Eds. Pergamon**, New York, Vol. 4, p. 241, 1990.
- HARGREAVES, M. K., PRITCHARD, J. G., DAVE, H. R. Cyclic Carboxylic Monoimides. **Chem. Rev.** v. 70, n. 4, p. 439 – 469, 1970.
- HORI, K., NISHIGUCHI, T., NABEYA, A. A Theoretical and Experimental Study on Acid-Catalyzed Isomerização of 1-Acylaziridines to the Oxazolines. Reexamination of a Possible  $S_Ni$  Mechanism by Using *ab initio* Molecular Orbital Calculations. **J. Org. Chem.** v. 62, n. 10, p. 3081 – 3088, 1997.
- HOU, T., XU, X. A new Molecular Simulation Software Package – Peking University Drug Design System (PKUDDS) for Structure-based Drug Design. **J. Mol. Graphics Modell.** v. 19, n. 5, p. 455–465, 2001.
- HUNSKAAR, S., HOLE, K. The Formalin Test in Mice: Dissociation Between Inflammatory and non-inflammatory Pain. **Pain.** v. 30, p. 103 – 114, 1987.
- JAWETZ, E. MELNICK, J. L.; ADELBERG, E. A. **Microbiologia Médica**. 21. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 611 p.

- KALGUTKAR, A. S., CREWS, B. C., MARNETT, L. J. Design, Synthesis, and Biochemical Evaluation of N-Substituted Maleimides as Inhibitors of Prostaglandin Endoperoxide Synthases. **J. Med. Chem.** v. 39, n. 8, p. 1692 – 1703, 1996.
- KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 629 – 655, 1995
- KELLEY, J. L., MUSSO, D. L., BOSWELL, G. E., et al. (2S,3S,5R)-2-(3,5-difluorophenyl)-3,5-dimethyl-2-morpholinol: A Novel Antidepressant Agent and Selective Inhibitor of Norepinephrine Uptake. **J. Med. Chem.** v. 39, n. 2, p. 347 – 349 Jan, 1996.
- KIM, J. Y., SU, T. L., CHOU, T. C., et al. Cyclopent[a]anthraquinones as DNA-Intercalating Agents with Covalent Bond Formation Potential: Synthesis and Biological Activity. **J. Med. Chem.** v. 39, n. 14, p. 2812 – 2818, 1996.
- KONOVALOV, A. I., KISELEV, V. D., VIGDOROVICH, O. A. The Diene Synthesis and Charge – Transfer Complexes II. The Reactivity and Complex – Forming Ability of Dienophiles. **J. Org. Chem. USSR**. v. 3, p. 2034 – 2037, 1967.
- KORN, A., EICHLER, H. G., FISCHBACH, R., et al. Moclobemide, a New Reversible MAO Inhibitor Interaction with Tyramine and Tricyclic Antidepressants in Healthy-Volunteers and Depressive Patients. **Psychopharmacology**. v. 88, n. 2, 153 – 157, 1986.
- KOROLKOVAS, A., BURCKHALTER, J. H. **Química Farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 783 p.

- KUMAR, G. S., MUSSER, S. M., CUMMINGS, J., et al. 2,7-Diaminomitosene, a Monofunctional Mitomycin C Derivative, Alkylates DNA in the Major Groove. Structure and Base-Sequence Specificity of the DNA Adduct and Mechanism of the Alkylation. **J. Am. Chem. Soc.** v. 118, n. 39, p. 9209 – 9217, 1996.
- LUCERO, M. J., HOUK, K. N. Torsional Control of Epoxidation Stereoselectivity in 1,2-Dihydronaphthalenes. Transition State Modeling with Semiempirical Quantum Mechanics. **J. Org. Chem.** v. 63, n. 20, p. 6973 – 6977, 1998.
- MARCH, J. **Advanced Organic Chemistry – Reactions, Mechanisms, and Structure**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons. 1992. 1495 p.
- MARTIN, A. R., PARADKAR, V. M., PENG, G. W., et al. Conformationally Restricted Tricyclic Antidepressants. Octahydrodibenzazepinone-phthyridines as Rigid Imipramine Analogs. **J. Med. Chem.** v. 23, n. 8, p. 865 – 873, 1980.
- MARTIN, Y.C. **Quantitative Drug Design: A Critical Introduction**. New York: Marcel Dekker, p. 376 – 397, 1978.
- Mc LAUGHLIN, J. L. **Methods in Plant Biochemistry**. London: Academic Press, 1991. 358 p.
- MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAM, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., Mc LAUGHLIN, J. L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. **Planta Med.** v. 45, p. 31 – 34, 1982.
- MORGAN, M. S., TIPSON, R. S., LOWY, A., BALDWIN, W. E. Some Derivatives of *cis*-3,6-Endomethylene- $\Delta^4$ -tetrahydrophthalic Acid. **J. Amer. Chem. Soc.** v. 66, p. 404 – 406, Mar, 1944.

- MURRAY, C. W., PORRECA, F., COWAN, A. Methodological Refinements of the Mouse Paw Formalin Test. An Animal Model of Tonic Pain. **J. Pharmacol. Meth.** v. 20, p. 175 – 186, 1988.
- NEW, J. S., YEVICH, J. P., EISON, M. S. et al. Buspirone Analogues. 2. Structure-Activity Relationships of Aromatic Imide Derivatives. **J. Med. Chem.** v. 29, n. 8, p. 1476 – 1482, 1986.
- NUNES, R. J. **The Chemistry and Biological Activity of Cyclic Imidobenzenesulphonyl Derivatives**. Hatfield: Hatfield Polytechnic, 1986. 212 p. (PhD Thesis in Organic Chemistry).
- OEHLSCHLAGER, A. C., ZALKOW, L. H. Evidence for the Formation of *exo* and *endo* Aziridines in the reaction of *cis-endo* and *cis-exo*-Bicyclo[2.2.1]-5-heptene-2,3-dicarboxylic Anhydride and Benzenesulfonyl Azide. **Can. J. Chem.** v. 47, n. 3, p. 461 – 465, 1969.
- OHLWEILER, O. A. **Teoria e Prática da Análise Quantitativa Inorgânica**. v. 3, Brasília DF: Editora Universidade de Brasília. 1968. 810 p.
- PACI, A., RIEUTORD, A., BRION, F., PROGNON, P. Separation Methods for Alkylating Antineoplastic Compounds. **J. Chromatogr. B.** v. 764, p. 255 – 287, 2001.
- PARRA, A. L., YHEBRA, R. S., SARDIÑAS, I. G., BUELA, L. I. Comparative Study of the Assay of *Artemia salina* L. and the Estimate of the Medium Lethal Dose (LD<sub>50</sub> value) in Mice, to Determine Oral Acute Toxicity of Plant Extracts. **Phytomedicine**. v. 8, n. 5, p. 395 – 400, 2001.

- PATRICK, G.L. ***An Introduction to Medicinal Chemistry***. USA: Oxford University Press, Cap. 9, 1998.
- PELLOW, S., CHOPIN, P., FILE, S. E. BRILEY, M. Validation of Open: Closed Arm Entries in an Elevated Plus-Maze as a Measure of Anxiety in the Rat. ***J. Neurosci. Meth.*** v. 14, p. 149 – 167, 1985.
- PELLOW, S., FILE, S., Anxiolytic and Anxiogenic Drug Effects on Exploratory Activity in an Elevated Plus-maze: A Novel Test of Anxiety in the Rat. ***Pharmacol. Biochem. Behav.*** v. 24, p. 525 – 529, 1986.
- PERRIN, D. D., ARMAREGO, W. L. F. ***Purification of Laboratory Chemicals***. 3. ed. São Paulo: Pergamon Press, 1988. 392 p.
- PORSOLT, R. D., BERTIN, A., JALFRE, M. “Behavioural Despair” in Rats and Mice: Strain Differences and the Effects of Imipramine. ***Eur. J. Pharmacol.*** v. 51, 291 – 294, 1978.
- PRASAD, A., GLOVER, V., GOODWIN, B. L., et al. Enhanced Pressor Sensitivity to Oral Tyramine Challenge Following High-Dose Selegiline Treatment. ***Psychopharmacology***. v. 95, n. 4, 540 – 543, 1988.
- PRATT, L. M., ROBBINS, S. A Computational Study of Structure, Bonding, and Aggregation of N-Lithioaziridine. ***J. Mol. Struct.*** v. 466, p. 95 – 101, 1999.
- PRATT, W. B., et al. ***The Anticancer Drugs***. New York: Oxford University Press. 1994. p. 127.



- PRETSCH, E., CLERC, T., SEIBL, J., SIMON, W. **Tables of Spectral Data for Structure Determination of Organic Compounds**. 2. ed. New York: Springer-Verlag, 1989. p. C120, C125, H255 e H256.
- RAINER, F. **Theoretical Drug Design Methods**. v. 7, Berlin: Alkademie-Verlag, 1984.
- RANG, H. P. **Farmacologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 467 – 490, 1993.
- RASTELLI, G., FANELIL, F., MENZIANI, M. C., COCCHI, M., DE BENEDETTI P. G. Conformational Analysis, Molecular Modeling and Quantitative Structure-activity Relationship Studies of 2,4-diamino-6,7-dimethoxy-2-substituted Quinazoline  $\alpha_1$ -adrenergic antagonists. **J. Mol. Struct.** v. 251, p. 307 – 316, 1991.
- RECANATINI, M., CAVALLI, A. Comparative Molecular Field Analysis of Non-steroidal Aromatase Inhibitors: An Extended Model for Two Different Structural Classes. **Bioorg. Med. Chem.** v. 6, p. 377 – 388, 1998.
- SALAKHOV, M. S., MUSAEVA, N. F., SULEIMANOV, S. N., BAIRAMOV, A. A. Kinetics Mechanism of the Diene Condensation of Hexachlocyclopentadiene with Cyclic Dienophiles. **J. Org. Chem. USSR**. v. 15, p. 2106 – 2112, 1979.
- SAMPLE Jr, T. E., HATCH, L. F. **J. Chem. Educ.** v. 45, p. 55, 1968. apud AULT, A. **Techniques and Experiments for Organic Chemistry**. 5. ed. New York: Waveland. 1994. p. 438

- SANT'ANNA, C. M. R., SOUZA, V. P. Estudo Semi-empírico de Ácidos Hidroxâmicos: Ácido Formoidroxâmico e Derivados do Aleloquímico DIMBOA. **Quím. Nova.** v. 24, n. 5, p. 583– 587, 2001.
- SCHNEIDER, N. S. H. **Fundamentos da Potenciometria.** Santa Maria RS: Imprensa Universitária UFSM. 2000. 176 p.
- SINGH, P., SHARMA, R. C. Quantitative structure-Activity Relationship Studies on a New Class of Antihypertensive Agents: Derivatives of 3-Aryl-4,5,6,7-tetrahydro-1H-pyrazolo[4,3-c]pyridine. **Quant. Struct. Act. Relat.** n. 9, p. 29 – 32, 1990.
- SIQUEIRA, J. M., BOMM, M. D., PEREIRA, N. F. G., GARCEZ, W. S., BOAVENTURA, M. A. D. Estudo Fitoquímico de *Unonopsis Lindmanii* – Annonaceae, Biomonitorado pelo Ensaio de Toxicidade sobre a *Artemia Salina* Leach. **Quím. Nova.** v. 21, n. 5, p. 557, 1998.
- SKIBO, E. B., SCHULZ, W. G. Pyrrol[1,2- $\alpha$ ]benzimidazole-Based Aziridiny Quinones. A New Class of DNA Cleaving Agent Exhibiting G and A Base Specificity. **J. Med. Chem.** v. 36, n. 21, p. 3050 – 3055, 1993.
- SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J. **Analytical Chemistry An Introduction.** 6. ed. Philadelphia: Saunders College Publishing. p. 328 – 353. 1994.
- SMITH, W. B. **Introduction to Theoretical Organic Chemistry and Molecular Modeling.** New York: Wiley-VCH. 1996. 194 p.
- STEWART, J. J. P., MOPAC V 6.0 - QCPE Program no. 455. **QCPE Bull.**, v. 9 n. 10, 1989. (disponível pela Indiana University, Bloomington, EUA).

- STRATFORD, E. S., CURLEY Jr., R. W. Synthesis of Aminomethyl-Substituted Cyclic Imide Derivatives for Evaluation as Anticonvulsants. **J. Med. Chem.** v. 26, n. 10, p. 1463 – 1469, 1983.
- STREITWIESER Jr, A., HEATHCOCK, C. H. **Introduction to Organic Chemistry**. 2 ed. New York: Macmillan Publishing. 1981. 1258 p.
- SUTO, M. J., STIER, M. A., WERBEL, S. L. M., et al. A New Class of Analogues of the Bifunctional Radiosensitizer  $\alpha$ -(1-Aziridinylmethyl)-2-nitro-1H-imidazole-1-ethanol (RSU 1069): The Cycloalkylaziridines. **J. Med. Chem.** v. 34, n. 8, p. 2484 – 2488, 1991.
- TEMPESTA, M. S., CORLEY, D. G., BEUTLER, J. A., METRAL, C. J., YUNES, R. A., GIACOMOZZI, C. A., CALIXTO, J. B. Phyllanthimide, a new Alkaloid from Phyllanthus Sellowianus. **J. Nat. Prod.** v. 3, p. 617-618, 1988.
- TOPLISS J. G. A Manual Method for Applying the Hansch Approach to Drug Design. **J. Med. Chem.** v. 20, n. 4, p. 463-469, 1977.
- TÜRKER, L. PM3 Treatment of Monoazacyclacenes. **J. Mol. Struct.** v. 492, p. 159 – 163, 1999.
- WALTER, M. E., MORA, C., MUNDSTOCK, K., SOUZA, M. M., PINHEIRO, A. O., YUNES, R. A., NUNES, R. J. Antinociceptive Properties of Chloromaleimides and their Sulphonyl Derivatives. **Pharmazie**. (artigo recentemente aceito pela revista), 2004.
- WRIGHT, J. R. **Jaguar User's Guides**. Version 4.2, Schrodinger Inc. Portland OR. 2002. 349 p. Capturado em 9 de Out. 2003. On-line. Disponível na Internet <http://www.schrodinger.com>

YATSENKO, A. V., PASESHNICHENKO K. A. On the Suitability of AM1 for the Modeling of Molecules Containing Amino Groups. **J. Mol. Struct.** v. 492, p. 277 – 283, 1999.

ZALKOW, L. H., KENNEDY, C. D. The Reaction of Benzenesulfonyl Azide with 2,3-*endo-cis*-Dicarboxybicyclo [2.2.1]-2-heptene Anhydride. **J. Org. Chem.** v. 28, p. 3309-3312, 1963.

ZALKOW, L. H., OEHLISCHLAGER, A. C. The Reaction of Benzenesulfonyl Azide with Bicyclo [2.2.1]-2-heptene. **J. Org. Chem.** v. 28, p. 3303 – 3309, 1963.